19. Тронько Н.Д., Богданова Т.И. Рак щитовидной железы у детей Украины (последствия Чернобыльской катастрофы).- К.: Чернобыльинформ, 1998.- 200с.
20. Щитовидна залоза та навколишнє середовище / Гербільський Л.В., Мусієнко Є.А., Пінська В.М., Пушкар С.І., Рукавішнікова Д.К. Ендокринологія.- К.: Здоров'я, 1994.- Вип.23.- С.46-48.

Я.І. ТОМАШЕВСЬКИЙ, О.І.БУМБАР, Н.Я.ТОМАШЕВСЬКА, З.О.БУМБАР, О.Є. ДАНИЛЯК, М.Б. МУШКЕВИЧ

ОПТИМІЗОВАНІ МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ ВУГЛЕВОДНОГО ОБМІНУ ДЛЯ «ПРОГРАМИ ЗАГАЛЬНОЇ ДИСПАНСЕРИЗАЦІЇ НАСЕЛЕННЯ».

У статті наведені оптимізовані методи визначення вмісту альфа-кетокислот у сечі і піруватдегідрогеназної активності крові.

Ключові слова: альфа-кетокислоти, вуглеводний обмін, піруватдегідрогеназна активність крові.

В статье наведены унифицированные методы определения содержания альфа-кетокислот в моче и пируватдегидрогеназной активности крови.

Ключевые слова: альфа-кетокислоты, углеводный обмен, пируватдегидрогеназная активность крови

The optimized methods of determination of content of alpha-ketoacids in the urine and pyruvatdehydrogenase activity of blood are presented in the article.

Key words: alpha-lipoic acid, carbohydrate metabolism, piruvatdehydrogenic activity of blood

Проблему ранньої діагностики цукрового діабету започаткували А. Штейнберг та Р. Вільдер [1], які виходили із гіпотези про рецесивний тип успадкування цукрового діабету і приймали частоту діагностованого діабету за 1%. При цьому автори виконали математичні розрахунки, згідно з якими ген діабету присутній у 20-25% населення, а загальна частота діабету (діагностованого, недіагностованого та потенційного) повинна становити 5%.

Мета досліджень

Метою досліджень було опрацювати методи ранньої діагностики цукрового діабету та визначити частоту функціональних станів гормональної регуляції циклу трикарбонових кислот (ЦТК) у загальній популяції.

Матеріали та методи досліджень

У процесі профілактичних оглядів населення (31579 осіб) уніфіковано метод досліджень піруватдегідрогеназної (ПДГ) активності крові та сумарного вмісту альфа-кетокислот у сечі [2,3].

Визначення функціонального стану піруватдегідрогеназної системи мітохондрій

У програмі загальної диспансеризації населення піруватдегідрогеназний (ПДГ) тест використовується з метою диференціації інсулінорезистентності вітамінонезалежної та B_1-гіповітамінозу, який віддзеркалений показниками зниженої функціональної активності піруватдегідрогеназного комплексу та надмірної екскреції з сечею альфа-кетокислот.

В основу фериціанідного методу визначення активності піруват- та альфа-кетоглютаратдегідрогенази мітохондрій покладений принцип відновлення фериціаніду калію (K_3 [Fe (CN)$_6$]), що нерозривно пов'язане із окисленням кетокислоти. Для зручності у прописі наведені не тільки назви реактивів, але й склад проби, що підлягає інкубації.

У дослідну і контрольну пробірки вносять:

Р е а к т и в и		Вміст у пробі, мл
1.	KCl, 0,15 М або 1,12% розчин	1,0
2.	Фериціанід калію , 6,7 ммоль/л, або 220,6 мг % розчин (М=329,26): 50 мг реактиву у 22,67 мл H_2O	0,70
3.	$MgSO_4$, 0,2 М або 2,41 % розчин (10 мл 25% розчину розвести водою до 103,8 мл)	0,10
4.	Кров із пальця, мл	0,04

Дослідну пробу інкубують 20 хв. при 37°С у водяній бані або термостаті (для спрощення процедури пацієнт може тримати пробірку в п'ястку або під пахвою). Після інкубації реакцію зупиняють, вносячи у пробірку 0,3 мл 50% розчину трихлороцтової кислоти (ТХО). У контрольну пробірку ТХО вносять безпосередньо після забору крові.

Після цього проби центрифугують і фотометрують проти H_2O на фотоелектроколориметрі (ФЕК,синій світлофільтр, 440 нм, кювета із довжиною оптичного шляху – 5 мм) або спектрофотометрі при 417 нм. Кількість відновленого фериціаніду калію визначають за калібрувальною кривою та активність ферменту визначають у мкмоль).(с.-л) або мккат/л:

Розведення стандартного розчину фериціаніду, 6,7 ммоль/л:		Вміст фериціаніду в пробі, мкмоль:	Оптична густина
Стандарт, мл	H2O,мл		
0,1	1,9	0,67	0,05
0,2	1,8	1,34	0,10
0,3	1,7	2,01	0,15
0,4	1,6	2,68	0,20
0,5	1,5	3,35	0,25
0,6	1,4	4,02	0,30
0,7	1,3	4,69	0,35

Наведені показники оптичної густини використовуються для побудови калібрувальної кривої розведень стандартного розчину фериціаніду (табл.1) :

Таблиця 1

Шкала оптичної густини розведень стандартного розчину фериціаніду у пробі

Оптична густина	Соті частини показника оптичної густини									
	0,00	0,01	0,02	0,03	0,04	0,05	0,06	0,07	0,08	0,09
	Вміст фериціаніду в крові, мкмоль									
0,0	-	0,13	0,27	0,04	0,54	0,67	0,08	0,94	0,94	1,21
0,1	1,34	1,47	1,61	1,74	1,88	2,01	2,14	2,28	2,41	2,55
0,2	2,68	2,81	2,95	3,08	3,22	3,35	3,48	3,62	3,75	3,89
0,3	4,02	4,15	4,29	4,42	4,56	4,69				

Результати виконаних досліджень (табл.1) підтверджують наявність лінійної залежності величин оптичної густини від показників вмісту фериціаніду в пробі.

Визначено ціну сотої частки (0,01) шкали ФЕК у мкмоль) (с.-л)

ПДГ-активності крові:

ПДГ-активність крові, мкмоль/(с.-л), відповідно до 0,01 шкали ФЕК $= \frac{6,7 \times 0,7 \times 0,01 \times 1000}{0,35 \times 0,04 \times 1200} =$ 2,79 мкмоль/(с.-л),

де: 6,7-концентрація фериціаніду, мкмоль/мл; 0,7-об'єм розчину фериціаніду в пробі, мл; 0,01-коефіцієнт для перечислення на соту частку шкали ФЕК; 1000-коефіцієнт для розрахунку в

мкмоль/л; 0,35-оптична густина стандартного розчину фериціаніду (4,69 мкмоля у пробі); 0,04-кількість крові витраченої для аналізу, мл;

В результаті складено формулу для обчислення ПДГ-активності крові:

ПДГ-активність крові, мкмоль/(с.-л) $= \frac{(K - Д) \times 6{,}7 \times 0{,}7 \times 0{,}01 \times 1000}{0{,}35 \times 0{,}04 \times 100 \times 1200} =$ (К-Д) × 2,79167,

де: К-оптична густина контролю; Д - оптична густина досліду; інші показники є аналогічні даним попередньої формули.

Облегшує розрахунки наступна таблиця (табл.2):

Таблиця 2

Показники ПДГ-активності крові, мкмоль/(с.-л) = (К-Д) х 2,79167

Різниця показників ФЕК для досліду і контролю (К-Д)								
0,01	0,02	0,03	0,04	0,05	0,06	0,07	0,08	0,09
ПДГ-активності крові, мкмоль/(с.-л)								
2,79	5,58	8,38	11,2	14	16,8	19,5	22,3	25,1

У здорових людей ПДГ-активність крові віддзеркалена величинами оптичної густини у межах 0,03-0,06, що становить 8,4-16,8 мкмоль/ (с.-л), М=12,6±0,15 мкмоль/ (с.-л), Р<0,01.

Визначення сумарного вмісту альфа-кетокислот у сечі модифікованим методом Умбрайта

Принцип. Піруват та альфа-кетоглютарат сечі конденсуються із 2,4-динітрофенілгідразином (ДНФГ) з утворенням гідразону,який у лужному середовищі дає червоно-оранжеве забарвлення розчину. Його інтенсивність є пропорційна концентрації кетокислоти.

Обладнання:

1. Фотоелектроколориметр (ФЕК);
2. Дві пробірки (5 мл);
3. Піпетка (1 мл);

Реактиви:

1. Розведена соляна кислота (HCl, 8,33%)- можна придбати в аптеці;
2. Солянокислий 0,1% розчин ДНФГ. 50 мл реактиву розчиняють у 30 мл розведеної соляної кислоти (8,33%) при слабкому підігріванні суміші. Розчин залишають до наступного дня,тоді його об'єм доводять до 50 мл дистильованою водою.
3. Розчин натрію гідроокису (NaOH)-12 г/100 мл.

Хід визначення:

У дві пробірки (5 мл) - дослідну (Д) і контрольну (К) вносять:

	Д	К
1. H_2O, мл	0,5	0,6
2. ДНФГ, мл	0,4	0,4
3. Сечу, мл	0,1	

Вміст пробірок змішують після додавання кожного реактиву і на 20 хв. залишають у темному місці при кімнатній температурі. Опісля у пробірки додають по 1 мл розчину NaOH 12%, змішують і через 5 хв. колориметрують інтенсивність червоно-оранжевого забарвлення досліду відносно контролю (ФЕК, світлофільтр синій - 490 нм, кювета із довжиною оптичного шляху - 5мм). Показники оптичної густини переводять у мкмоль/л, помноживши кожен із них на 5000.

Для обчислення сумарного вмісту альфа-кетокислот у сечі використовують таблицю (табл.3).

У здорових людей в 2-годинній прандіальній сечі рівень альфа-кетокислот становить 550-850 мкмоль/л, сумарний їх вміст перебуває у межах 5,0-11,4 мг (Р<0,05), у нічній сечі - 500-800 мкмоль/л і 12-24 мг (Р< 0,05), у 2-годинній сечі натщесерце – 450-750 мкмоль/л і 4-7 мг (Р<0,05).

Таблиця 3

Обчислення сумарного вмісту альфа-кетокислот у сечі

Об'єм сечі, мл	Оптична густина								
	0,01	0,02	0,03	0,04	0,05	0,06	0,07	0,08	0,09
	Вміст альфа-кетокислот, мг								
100	0,44	0,88	1,32	1,76	2,20	2,64	3,08	3,52	3,96
150	0,66	1,32	1,98	2,64	3,30	3,96	4,62	5,28	5,94
200	0,88	1,76	2,64	3,52	4,40	5,28	6,16	7,04	7,92
250	1,10	2,20	3,30	4,40	5,50	6,60	7,70	8,80	9,90
300	1,32	2,64	3,96	5,28	6,60	7,92	9,24	10,6	11,9
350	1,54	3,08	4,62	6,16	7,70	9,24	10,8	12,3	13,9
400	1,76	3,52	5,28	7,04	8,80	10,6	12,3	14,1	15,8
450	1,98	3,96	5,94	7,92	9,90	11,9	13,9	15,8	17,8
500	2,20	4,40	6,60	8,80	11,0	13,2	15,4	17,6	19,8
550	2,42	4,84	7,26	9,86	12,1	14,5	16,9	19,4	21,8
600	2,64	5,28	7,92	10,6	13,2	15,8	18,5	21,1	23,8
650	2,86	5,72	8,58	11,4	14,3	17,2	20,0	22,9	25,7
700	3,08	6,16	9,24	12,3	15,4	18,5	21,6	24,6	27,7
750	3,30	6,60	9,90	13,2	16,5	19,4	23,1	26,4	29,7
800	3,52	7,04	10,6	14,1	17,6	21,1	24,6	28,2	31,7
850	3,74	7,48	11,2	15,0	18,7	22,4	26,2	29,9	33,7
900	3,96	7,92	11,9	15,8	19,8	23,8	27,7	31,7	35,6
950	4,18	8,36	12,5	16,7	20,9	25,1	29,3	33,4	37,6
1000	4,40	8,80	13,2	17,6	22,0	26,4	30,8	35,2	39,6
1050	4,62	9,24	13,9	18,5	23,1	27,7	32,3	37,0	41,6
1100	4,84	9,68	14,5	19,4	24,2	29,0	33,9	38,7	43,4
1150	5,06	10,1	15,2	20,2	25,3	30,4	35,4	40,5	45,5
1200	5,28	10,6	15,8	21,1	26,4	31,7	37,0	42,2	47,5
1250	5,50	11,0	16,5	22,0	27,5	33,0	38,5	44,0	49,5
1300	5,72	11,4	17,2	22,9	28,6	34,3	40,0	45,8	51,5
1350	5,94	11,9	17,8	23,8	29,7	35,6	41,6	47,5	53,5
1400	6,16	12,3	18,5	24,6	30,8	37,0	43,1	49,3	55,4
1450	6,38	12,8	19,1	25,5	31,9	38,3	44,7	51,0	57,4
1500	6,60	13,2	19,8	26,4	33,0	39,6	46,2	52,8	59,4
1550	6,82	13,6	20,5	27,3	34,1	40,9	47,7	54,6	61,4
1600	7,04	14,1	21,1	28,2	35,2	42,2	49,3	56,3	63,4
1650	7,26	14,5	21,8	29,0	36,3	43,6	50,8	58,1	65,3
1700	7,48	15,0	22,4	29,9	37,4	44,9	52,4	59,8	67,3
1750	7,70	15,4	23,1	30,8	38,5	46,2	53,9	61,6	69,3
1800	7,92	15,8	23,8	31,7	39,6	47,5	55,4	63,4	71,3
1850	8,14	16,3	24,4	32,6	40,7	48,8	47,0	65,1	73,3
1900	8,36	16,7	25,1	33,4	41,8	50,2	58,5	66,9	75,2
1950	8,58	17,2	25,7	34,3	42,9	51,5	60,1	68,6	77,2
2000	8,80	17,6	26,4	35,2	44,0	52,8	61,6	70,4	79,2

Результати та їх обговорення

За звітний період обстежено 31579 людей Прикарпатського регіону із застосуванням альфа-кетонуричного та піруватдегідрогеназного тестів. Поглиблений статичний аналіз виконано при огляді 292 осіб (вік від 6 до 80 років),що імітують загальну популяцію.

У першу групу обстежених залучено 121 особу без факторів ризику щодо можливого розвитку цукрового діабету. Це дало можливість побудувати криву нормального розподілу показників ПДГ-активності крові на 120-й хвилині тесту на толерантність до глюкози. Вона охоплює величини у межах 8,14-16,30 мккат/л:n=121 (41,44%), M=12,16 мккат/л ± 0,14 мккат/л, 3□=4,14 мккат/л, M± 3□=8,02-16,30 мккат/л, що прийнято за норму.

Показники вуглеводного обміну, отримані в період вуглеводного навантаження, віддзеркалюють функціональний стан циклу трикарбонових кислот та ПДГ-системи мітохондрій. Такий підхід дозволяє зробити висновок, що частота фізіологічної активності цих систем у загальній популяції становить 41,44% (у 121 особи із 292 обстежених, P< 0,01).

Другу групу обстежених представляють 94 практично здорові особи (32,19 % загальної популяції), у яких діагностовано вітамінонезалежну інсулінорезистентність у циклі трикарбонових кислот (ендогенна або спадкова схильність до цукрового діабету). Маркерами такої інсулінорезистентності є величини підвищеного вмісту альфа-кетокислот у 2–годинній прандіальній сечі (11,9-40,0 мг) на фоні нормальної ПДГ-активності крові (8,0-16,30 мккат/л).

У третю групу залучено 22 особи (7,53% загальної популяції), у яких виявлено біохімічні маркери вітамінозалежної інсулінорезистентності у циклі трикарбонових кислот: підвищені показники 2-годинної прандіальної альфа-кетонурії (12,0-29,0 мг) на фоні ПДГ-недостатності мітохондрій (3,40-7,80 мккат/л).

До четвертої групи обстежених залучено 45 осіб із гіперплазією щитовидної залози I-II ступенів, у яких виявлено синдром контрінсулярної недостатності (гіпотиреоз, йододефіцитний стан). Його прояви-низька ПДГ-активність крові (2,03-7,80 мккат/л), що реєструється в осіб із показниками нормальної (6,0-11 мг) або пониженої (3,0-4,9 мг) 2-годинної прандіальної альфа-кетонурії. Це легкий ступінь зобної ендемії,що реєструється у 15,41% людей Прикарпатського регіону,згідно із критеріями,що рекомендовані ВООЗ (1994).

Окремо виділено п'яту групу (7 осіб або 2,40% загальної популяції), у яких діагностовано гіперінсулінізм мітохондріальний (ПДГ-гіпертолерантність до глюкози): 2-годинна прандіальна альфа-кетонурія не перевищувала 9 мг на фоні підвищеної ПДГ-активності крові у межах 17,47-26-60 мккат/л і надлишку маси тіла,при підвищеному апетиті.

У шостій групі-3 особи із ендогенним синдромом Сомоджі і надлишком маси тіла та підвищеним апетитом. Маркерами реактивної гіперконтррегуляції були показники надлишкової екскреції із сечею альфа-кетокислот у межах від 14 мг до 16 мг за дві години після стандартного вуглеводного сніданку - як відповідь на гіперінсулінемію, що віддзеркалена показниками підвищеної ПДГ-активності крові (17,47-26,60 мккат/л). Частота ендогенного синдрому Сомоджі у загальній популяції -1,03%.

Висновки

Виконані дослідження дають підставу рекомендувати критерії діагностики шести станів гормональної регуляції циклу трикарбонових кислот (ЦТК) та піруватдегідрогеназної системи мітохондрій, n=292

Стан гормональної регуляції	ПДГ-активність крові, мккат/л (у знаменнику показники 2-годинної альфа-кетонурії, мг	Частота, у загальній популяції
1.Фізіологічний стан ЦТК	$\frac{8{,}01-16{,}30}{5{,}0-11{,}4}$	41,44% n=121
2. Інсулінорезистентність ЦТК вітамінозалежна (спадкова схильність до цукрового діабету)	$\frac{8{,}01-16{,}30}{>11{,}4}$	32,19% n=94
3. Інсулінорезистентність ЦТК вітамінозалежна	$\frac{<8{,}01}{>11{,}4}$	7,53% n=22

4. Йододефіцитний стан (контр-інсулярна недостатність, гіпотиреоз)	$\frac{<8,01}{<11,4}$	15,41% n=45
5. Гіперінсулінізм мітохондріальний	$\frac{>16,30}{<11,4}$	2,40% n=7
6. Гіперінсулінізм із синдромом Сомоджі	$\frac{>16,30}{>11,4}$	1,03% n=3
	Всього:	100% n=292

Перспективи подальших досліджень

На підставі завершених пошукових досліджень, виконаних з участю Української Академії профілактичної медицини, планується другий випуск « Уніфікованої програми загальної диспансеризації населення та профілактики йододефіцитних захворювань».

ЛІТЕРАТУРА

1. Диабет / Под.ред. Р.Уильямса, перевод с англ. – М.: Медицина, 1964.-С. 294.
2. Ендокринологія, Навчальний посібник для студентів та лікарів / За редакцією заслуженого професора ЛНМУ імені Данила Галицького Яреми Томашевського та професора Олександра Сергієнка. – Львів; НТШ, 2009.- 291 с.
3. Томашевський Я.І. Актова промова: «Український Міжнародний Інститут профілактичної медицини НТШ на магістралі боротьби з ендокринними захворюваннями» (3 грудня 2009 р.).- Львів, 2009. -32 с.

Л.В.ЧАПЛЕНКО

ЕМБРІОТОКСИЧНІ, ТЕРАТОГЕННІ І МУТАГЕННІ ДІЇ ЛІКАРСЬКИХ ПРЕПАРАТІВ

В статті розглядається вплив ушкоджучої дії лікарських препаратів на розвиток ембріона, плода і новонародженого, їх прояви на різні органи і системи.

Ключові слова: дія препарату, вади розвитку.

В статье рассматривается влияние токсического действия лекарственных препаратов на развитие эмбриона, плода и новорождённого, их проявления в разных органах и системах.

Ключевые слова: действие препарата, пороки развития.

The article considers influence of toxic effect of medicinal preparations on the development of the embrye, fetus and the infant, their manifestations in various organs and systems.

Key-words: effect of preparation, defects of development.

Раніше лікування жінок в період вагітності проводили, не думаючи про плід, вважаючи, що йому зашкодити неможливо, ніби природа сама подбала про його безпеку. А тому вперше про вплив медикаментозного лікування заговорили у зв`язку з виникненням великої кількості вроджених вад (в Європі і Америці) в 1961 році. Це стосувалося вад розвитку нижніх кінцівок у малят, матері яких в ранні терміни вагітності приймали снодійні препарати. Вияснилось, що медикаментозні препарати не тільки мають вплив на розвиток плода, але і на перебіг гестаційного періоду у жінок, на тономоторну функцію матки. Так було відзначено, що ацетилсаліцилова кислота та інші нестероїдні протизапальні середники сприяють переношуванню вагітності. Такий антибіотик як ампіцилін ускладнює перебіг і сприяє загрозі переривання вагітності, лінкоміцин сприяє міорелаксації і тим самим здовжує період вагітності. Але основною проблемою при