Міністерство освіти і науки України
Чернівецький національний університет
імені Юрія Федьковича

ННІ біології, хімії та біоресурсів
кафедра біохімії та біотехнології

Клініко-біохімічні маркери різних форм гіпотиреозу

Дипломна робота
рівень вищої освіти –перший (бакалаврський)

Виконала:
студентка 4 курсу
спеціальність - біологія
кафедра біохімії та біотехнології
Тулулюк Анастасія Олегівна
Науковий керівник: професор Г.П. Копильчук

До захисту допущено:
Протокол засідання кафедри № ____
від „___”_____2023 р.

зав. кафедри_____проф. Копильчук Г.П.

Чернівці
2023

Анотація

Робота присвячена аналізу можливості диференційної діагностики субклінічного та маніфестного гіпотиреозу за допомогою клініко-біохімічних маркерів крові.

Субклінічний гіпотиреоз характеризується незначним зниженням рівня FT4 та FT3 у сироватці крові або навіть показниками їх вмісту на рівні референсних величин на тлі підвищення концентрації ТТГ у сироватці крові хворих.

При маніфестному гіпотиреозі значно знижується вміст у сироватці крові хворих вільних форм тироксину та трийодтироніну на тлі посиленої секреції тиреотропного гормона.

Як субклінічна, так і маніфестна форми гіпотиреозу характеризуються дисліпідемією з переважанням атерогенних фракцій ліпідів та гіперглікемією, що є проявами метаболічного синдрому, більше вираженого у хворих з маніфестною формою гіпотиреозу.

Зміст

ВСТУП…….....…….....4

РОЗДІЛ І Огляд літератури…….....……..6

1.1. Гормональна регуляція роботи щитоподібної залози…….6

1.2. Системні порушення при різних формах гіпотиреозу…….6

1.3. Біологічна роль трийодтироніну……9

1.4. Клінічні прояви гіпотиреозу……11

1.5. Особливості тиреогенного гіпотиреозу……..12

РОЗДІЛ ІІ Методи досліджень…….……14

РОЗДІЛ ІІІ Результати та їх обговорення…….....18

ВИСНОВКИ……2 8

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ 29

ДОДАТОК……..……32

Вступ

Нині захворювання щитоподібної залози посідають чільне місце серед патологій органів ендокринної системи [1]. Тому питання її діагностики, особливо диференційної діагностики на ранніх стадіях розвитку, стають щораз актуальнішими.

Західна частина України, зокрема Буковина – це йододефіцитна географічна зона, наслідком чого є висока частота захворюваності щитоподібної залози у жителів даного регіону. Додатковими факторами - тригерами порушення функціональної активності щитоподібної залози є погіршення екологічної ситуації, хронічні стреси та напруженість життєвого ритму [2, 3].

Найпоширенішим ендокринним захворюванням є гіпотиреоз, що супроводжується недостатністю тиреоїдних гормонів щитоподібної залози [2, 4, 5].

Гіпотиреоз розвивається внаслідок нестачі тироксину (Т4). Т4 – це гормон щитоподібної залози, який є попередником трийодтироніну (Т3).

Трийодтиронін – найактивніший гормон щитоподібної залози, який посилює тканинний обмін, утилізацію оксигену та білковий синтез – утворюється внаслідок відщеплення від тироксину одного атома йоду. А тому нестача Т4 призводить до нестачі Т3, що супроводжується зниженою метаболічною активністю. Дефіцит Т3 провокує розвиток гіпотиреозу, який характеризується наступними клінічними симптомами: сонливість, загальмованість, зниження пам’яті; збільшення маси тіла, набряки; сухість шкіри; схильність до закрепів; порушення репродуктивної функції у жінок [6].

Структурно-функціональні порушення щитоподібної залози впливають на весь метаболізм в організмі. Проте найчастіше дисфункція щитоподібної залози проявляється як вторинна ендокринна кардіоміопатія [7].

Тиреоїдна кардіоміопатія – це дисфункція міокарда на тлі дисфункції щитоподібної залози [8].

Гіпотиреоз може супроводжуватись також інсулінорезистентністю, тобто зниженням чутливості мембранних рецепторів до інсуліну [1].

Для гіпотиреозу характерний метаболічний синдром з усіма його симптомами – не тільки інсулінорезистентністю, а й ожирінням, дисліпідемією і, як наслідок, - артеріальна гіпертензія та серцеві захворювання [9]. Прояви метаболічного синдрому характерні як для вираженого, так і субклінічного гіпотиреозу [10, 11].

Метою даної роботи було проаналізувати можливість диференційної діагностики субклінічного та маніфестного гіпотиреозу за допомогою клініко-біохімічних маркерів крові.

Розділ І

Огляд літератури

1.1. Гормональна регуляція роботи щитоподібної залози

Щитоподібна залоза – надзвичайно важлива ендокринна залоза, яка локалізується на передній поверхні шиї та утворена двома частками – правою та лівою, з'єднаними перешийком, внаслідок чого нагадує метелика. Основна функція даного ендокринного органу – синтез трийодтироніну (Т3 вільний) та тироксину (Т4 вільний). Активаність залози регулюється центральними ендокринними залозами – гіпофізом, епіфізом і гіпоталамусом. Тиреоліберин гіпоталамусу регулює роботу тиреоїдної системи, а функціональна активність щитоподібної залози знаходиться під контролем тиреотропного гормону (ТТГ) гіпофізу.

Тиреотропний гормон синтезується у передній частці гіпофізу **і розглядається як** основний регулятор функцій щитоподібної залози, підтримуючи сталий рівень тиреоїдних гормонів у крові. У свою чергу функціональна активність гіпофіза контролюється гіпоталамусом, зокрема, коли вміст гормонів гіпофізу в крові знижується, гіпоталамус вивільняє рилізинг-фактор, який стимулює секрецію ТТГ гіпофізом. Посилення синтезу ТТГ відбувається у відповідь на зниження рівня Т3 та Т4 у крові. К*оли рівень тиреоїдних гормонів у крові знижується* – розвивається гіпотиреоз.

1.2. Системні порушення при різних формах гіпотиреозу.

Гіпотиреоз – це комплекс симптомів, викликаних нестачею тироксину, що супроводжується недостатньою активністю трийодтироніну в клітинах організму, що в кінцевому рахунку виражається у сповільненні процесів обміну, розвитку інтерстеціального набряку внаслідок відкладання у підшкірній клітковині, м’язах та інших тканинах фібронектину та гідрофільних глікозаміногліканів.

Розрізняють три форми гіпотиреозу: первинний, вторинний і третинний.

Первинний розвивається внаслідок ушкодження щитоподібної залози. Причинами можуть бути хронічний аутоімунний тиреоїдит (хвороба Хашимото) інші тиреоїдити; тотальна або субтотальна тиреоїдектомія (ушкодження залишкової паренхіми щитоподібної залози аутоімунним процесом); лікування радіоактивним йодом ^{131}I, опромінення ділянки шиї; надлишок йодидів, внаслідок лікування йодовмісними контрастними речовинами (інактивація тиреопероксидази надлишком йоду, відома як ефект Вольфа-Чайкова); передозування антитиреоїдних препаратів; прийом сполук літію (блокування секреції Т4 і Т3), нітропрусиду натрію, фенітоїну, деяких інгібіторів тирозинкінази або α-інтерферону; дефіцит йоду у воді; вроджений гіпотиреоз.

Вторинний гіпотиреоз виникає внаслідок недостатнього або повного припинення секреції ТТГ гіпофізом через його ушкодження.

Вторинна і третинна форми гіпотиреозу здебільшого супроводжуються менш вираженими симптомами порівняно з первинною формою. Однак за цих умов можуть проявлятися ознаки функціональної недостатності інших ендокринних залоз, зокрема, симптоми гіпокортицизму, нецукрового діабету тощо.

Гіпокортицизм – це наднирникова недостатність, яка характеризується зниженням або повним припиненням секреції гормонів корою надниркових при їх деструкції (первинний гіпокортицизм) або як наслідок зміни гіпоталамо-гіпофізарного впливу (вторинний і третинний гіпокортицизм).

Нецукровий діабет – це захворювання, що характеризується зниженим вмістом в крові гормону вазопресину, внаслідок чого в нирках спостерігається зниження здатності до концентрування сечі.

Гіпотиреоз може розвиватися як компонента аутоімунного полігландулярного синдрому. Аутоімунний полігландулярний синдром

характеризується ураженням двох і більше ендокринних залоз або неендокринних органів.

Розрізняють ще один різновид гіпотиреозу – субклінічний гіпотиреоз, який супроводжується проявами депресії без типових симптомів.

Біохімічні клінічні аналізи крові виявляють дисліпідемію – підвищений вміст загального холестеролу та ЛНГ.

Маніфестний, або явно виражений, гіпотиреоз проявляється різноманітними симптомами з боку практично всіх систем органів.

Загальні симптоми – це ожиріння, втомлюваність, сонливість психомоторна і мовна загальмованість, мерзлякуватість.

Зміни з боку шкіри – це суха, холодна, бліда з жовтуватим відтінком шкіра; гіперкератоз епідермісу; сухе, ламке, рідке волосся тощо.

З боку серцево-судинної системи спостерігається брадикардія, ослаблення пульсу, приглушені тони серця, гіпотензія, рідше гіпертензія.

З боку дихальної системи відмічається потовщення голосових зв'язок, збільшення язика, запалення верхніх дихальних шляхів, симптоми дихальної недостатності.

Щодо травної системи, то характерними є хронічні закрепи, у важких випадках – непрохідність кишківника; асцит.

Порушення функціонування сечовидільної системи виражається у сповільненні процесу фільтрації нирок.

Нервова система реагує розвитком мононейропатії, парестезії тощо. **Психічні розлади проявляються у зниженій концентрації уваги, погіршенні пам'яті, депресії, емоційній нестійкості, часто – маніакально-депресивному синдромі або параноїдальному психозі, деменції, комі.**

Опорно-рухова система відзначається м'язовою слабкістю, швидкою втомлюваністю, загальмованістю рухів, м'язовими судомами, набряками суглобів.

Страждає репродуктивна система: у жінок спостерігаються порушення менструального циклу, безпліддя, переривання вагітності. У чоловіків – еректильна дисфункція.

У 1877 році до важкої форми гіпотиреозу вперше застосований термін – мікседема. Ендемічний кретинізм характеризується зобом, дуже низьким ростом, розумовою відсталістю, спричиненою дефіцитом йоду в внутрішньоутробному періоді та гіпотиреозом матері [12].

1.3. Біологічна роль трийодтироніну.

Основною функцією Т3 є регуляція основного обміну шляхом підвищеного споживання кисню клітинами.

Основний обмін – це такий рівень енергетичного обміну (мінімальна кількість калорій), що забезпечує підтримання мінімальної життєдіяльності організму.

Т3 інтенсифікує біосинтез білка, збільшує швдкість утилізації глюкози як основного джерела енергії в організмі, а також здійснює позитивний регуляторний вплив на катаболізм ліпідів. Т3 впливає практично на кожний орган, окрім селезінки та яєчок. Т3 посилює частоту серцевих скорочень і підвищує артеріальний тиск і температуру тіла. Гормон регулює процеси росту і розвитку організму – ЦНС і кісток. Окрім щитоподібної залози гормон може утворюватися в периферійній крові шляхом відщеплення молекули йоду від Т4. Т3 у 3-5 разів ефективніший, ніж Т4, але час життя Т3 становить від 1 до 2,5 днів, тоді як Т4 – 5-7 днів; тому концентрація Т3 в крові практично в 60 разів нижча, ніж Т4.

Кількість Т3 прямо пропорційна до кількості йоду і ТТГ. Надлишок гормону викликає розвиток гіпертиреозу, що проявляється наступними симптомами: тахікардія, гіпертензія, порушення серцевого ритму; підвищення температури, пітливість; нервозність, втомлюваність, слабкість при підвищенні фізичного навантаження, тремтіння рук; порушення сну; зниження маси тіла без зниження апетиту, діарея [13].

Максимальне продукування Т3 в організмі людини спостерігається в період з 8 до 12 години ранку.

Загальний Т3 складається з двох фракцій: зв'язаної та вільної. Функціонально активною вважається вільна фракція, концентрація якої становить близько 0,3 % від загальної кількості гормона. Різні фактори (рівень тироксинозв'язувального білка) призводять до того, що при нормальній загальній кількості гормона, змінюється вміст вільного Т3, а як наслідок, змінюється його активність. З цієї причини для адекватної оцінки активності Т3 рекомендується визначати загальний вміст Т3 і кількість вільного Т3.

Вільний трийодтиронін – це біоактивна форма гормону, не зв'язана з білками (тироксинозв'язуючим глобуліном і альбуміном) крові. Вільна форма Т3 становить всього приблизно 0,4 % від загальної кількості гормону. Завдяки тому, що він вп'ятеро сильніший за Т4, навіть незначна його кількість забезпечує всі потреби організму.

80 % трийодтироніну утворюється внаслідок біологічної трансформації тироксину в периферичних органах, зокрема печінці та нирках, і лише 20 % синтезується щитоподібною залозою.

Вільний Т3 – це найактивніша форма гормону, що бере участь у тканинному диханні, регуляції теплообміну, активації продукування ретинолу в клітинах печінки, підтриманні низького рівня триацилгліцеролів і холестеролу в крові, активації процесу синтезу білка, підвищенні виведення кальцію з сечею, руйнуванні архітектоніки та демінералізації кісток, зміні сили і частоти серцевих скорочень, стимуляції деяких процесів головного мозку, активації функцій ростових гормонів та інсуліну, підвищенні всмоктування в ШКТ ціанокобаламіну, активації перистальтики кишечника, гормоносинтезуючій функції репродуктивної системи тощо.

Рівень вільного Т3 – важливий діагностичний критерій функції щитоподібної залози, а також використовується для контролю ефективності лікування її захворювань.

Показами для контролю активності Т3 вільного є необхідність уточнення діагнозу патології щитоподібної залози, відхилення від норми рівня тиреотропного гормону при нормальній активності Т4 вільного, прояви гіпертиреозу при нормальній кількості Т4 вільного.

Для дослідження рівня Т3 вільного проводять імунохемілюмінісцентний аналіз венозної крові.

Інтерпретація результатів аналізу.

Підвищення спостерігається при: гіпертиреозі первинному і вторинному; дифузному токсичному зобі; ізольованому Т3 токсикозі; тиреоїдитах; гіпотиреозі з резистентністю до тироксину; у жінок – дисфункція щитоподібної залози після пологів; нестача йоду в організмі; ожиріння; хоріонокарцинома; ендемічний зоб тощо.

Зниження – при гіпотиреозі I, II. III-ному; зниженому харчуванні або дієті зі зниженим вмістом харчового білка; стресі; курінні; хронічних патологіях печінки; у жінок: під час вагітності тощо [14].

1.4. Клінічні прояви гіпотиреозу.

Те, як гіпотиреоз буде відображатися на звичному ритмі життєвої активності, залежить від ступеню розвитку хвороби. Гіпотиреоз може розвиватися не тільки внаслідок функціональних порушень щитоподібної залози, а й патологічних процесів інших органів, що можуть змінювати гормональний фон організму. Крайній ступінь розвитку гіпотиреозу – це мікседема.

Тривожними сигналами організму, які можуть свідчити про розвиток гіпотиреозу є швидкий набір маси тіла, не пов‘язаний із підвищенням калорійності харчового раціону. Причиною зростання маси тіла є те, що гіпотиреоз сповільнює метаболізм і призводить до затримки води в тканинах, що проявляється у вигляді набряків і призводить до зайвої ваги. Гормональні порушення є причиною підвищеної втомлюваності, кволості, слабкості, що в цілому порушує звичний спосіб життя, значно погіршує якість життя. Хворі

на гіпотиреоз віддають перевагу малоактивному способу життя, що може стати ще однією причиною зайвої маси тіла.

Про гормональний дисбаланс можуть свідчити також проблеми зі шкірою, зокрема, незвичні потовщення, що не минають тривалий час, сухість шкіри, ламкість та випадіння волосся, розшарування нігтів тощо. Окрім того, спостерігаються збої в роботі кишечника, проблеми з жовчевим міхуром. Практично у всіх хворих із порушенням роботи щитоподібної залози спостерігається емоційна нестабільність і проблеми з пам‘яттю – забудькуватість, плаксивість чи сонливість. Може виявлятися навіть полінейропатія та порушення чутливості тканин. Нелікований гіпотиреоз може призвести до розвитку недоумкуватості.

Поява поколювань, оніміння м‘язів, болю в суглобах, набряків у них теж може бути пов‘язано з гіпотиреозом. У хворих на гіпотиреоз – низький та слабкий пульс, виражена недостатність кровообігу, артеріальна гіпотензія, набряки по тілу [15].

1.5. Особливості тиреогенного гіпотиреозу.

Найпоширенішою формою гіпотиреозу є первинний, або так званий тиреогенний гіпотиреоз, причина якого – первинне ушкодження щитоподібної залози. Ушкоджуючими факторами можуть бути хронічний аутоімунний тиреоїдит, нестача йоду, лікування радіоактивним йодом, оперативне втручання ([Pankiv VI. Endemichnyi zob (yododefitsytni zakhvoryuvannya). Mizhnarodnyi endokrynolohichnyi zhurnal. 2012; 7: 127–34. [Ukrainian]; Endokrynolohiya. Ed by PM Bodnar. Vinnytsya: Nova knyha; 2010. 464 p. [Ukrainian]].

Серед вище названих причин чільне місце посідає аутоімунний тиреоїдит. 20 % хворих на аутоімунний тиреоїдит страждають гіпотиреозом.

Внаслідок аутоімунного процесу в щитоподібній залозі відбувається дегенерація фолікулярних клітин, заміщення тканин залози фіброзною тканиною і деградація органу.

Іншою причиною гіпотиреозу може бути також вірусна інфекція.

Досить часто гіпотиреоз розвивається після оперативних втручань на щитоподібній залозі – так званий післяопераційний гіпотиреоз. Це явище зумовлене регенеративними можливостями щитоподібної залози, які, в свою чергу, великою мірою визначаються віковими особливостями пацієнтів. У хворих віком понад 40 років після видалення зобу знижені компенсаторні можливості внаслідок аутоімунного тиреоїдиту. Післяопераційний гіпотиреоз розвивається зазвичай упродовж року [16,17].

Пострадіаційний гіпотиреоз спостерігається у 20-30 % хворих, які приймали радіоактивний йод. Чим більший термін життя пацієнта після прийому радіоактивного йоду, тим більша ймовірність розвитку у нього гіпотиреозу. Радіоактивний йод пригнічує здатність клітин щитоподібної залози до регенерації. Нестача тиреоїдних гормонів призводить до функціонального порушення практично всіх органів, пригнічення всіх метаболічних шляхів.

Депонування у серці, легенях, нирках, серозних порожнинах і в усіх шарах шкіри кислих глікозаміногліканів призводить до зміни колоїдної структури сполучної тканини, підвищення рівня її гідрофільності, внаслідок чого розвивається мікседема, зростає периферійний судинний опір. Окрім того, розвивається гіперліпідемія, дисліпідемія, виникає метаболічний синдром [18-21].

Внаслідок дефіциту тиреоїдних гормонів відбувається різке зниження окислювальних процесів, накопичення токсичних продуктів метаболізму, що призводить до порушень у ЦНС, формування гіпотиреоїдного набряку внаслідок накопичення в тканинах мукополісахаридів [22].

На тлі дефіциту тиреоїдних гормонів розвивається остеопороз [23], знижується активність остеобластів і, навпаки, зростає руйнівна дія остеолкластів.

Відомо, що в нормі Т3 здійснює стимулюючу дію на остеобласти та хондроцити шляхом стимулювання секреції соматотропного гормону - СТГ. Трийодтиронін індукує утворення остеокальцину, колагену 1-го типу і

лужної фосфатази, підвищує інтенсивність диференціації остеобластів та апоптоз. Т3 стимулює інтерлейкіни IL-6 і IL-8, простагландини Е2 та цілу низку інших цитокінів, задіяних в процесі остеокластогенезу, таким чином впливаючи на резорбцію кісткової тканини.

Гіпотиреоз супроводжується зниженням вмісту кальцію у плазмі крові, відбувається його посилена секреція з сечею.

Надзвичайно чутливим до нестачі тиреоїдних гормонів є мозок. За умов гіпотиреозу значно знижуються інтелектуальні здібності, знижується стресостійкість, порушення енергетичного обміну, розвивається вторинна імунна недостатність. За умов дефіциту тиреоїдних гормонів підвищується ймовірність розвитку злоякісних новоутворень.

Отже, гіпотиреоз надзвичайно небезпечне захворювання, яке супроводжується порушенням функціонування всіх систем та органів.

Розділ ІІ
Методи досліджень

У ході дослідження проаналізовано історії хвороби 35 жінок, які зверталися по амбулаторну медичну допомогу й перебували на обстеженні в Чернівецькому обласному ендокринологічному центрі, яким виставлено діагноз гіпотиреозу. Всі досліджувані пацієнти поділені на 2 групи: 20 – з діагнозом субклінічний гіпотиреоз і 15 – з діагнозом маніфестний гіпотиреоз. Середній вік пацієнтів становив 41-47 років.

Визначення концентрації ТТГ у сироватці людини за допомогою мікропланшетного імуноферментного аналізу (колориметричного) [25].

Для дослідження беруть ранкову венозну кров натще. Кров збирають у пробірки для венепункції без будь-яких добавок. Кров повинна згорнутися, після чого проводять центрифугування для відділення сироватки. Зразки зберігають при температурі 2-8°С 5 діб. Пізніше їх можна заморозити до (-20°С) до 30 діб. Не можна після заморожування відтаювати і знову заморожувати. Для аналізу треба 0,1 мл сироватки. Реагенти повинні бути свіжими.

Приготування реагентів. 1. *Розчин для промивання*. Промивний концентрат доводять до 1 л дистилятом. Термін зберігання до 60 діб при 2-30°С.

Робочий субстратний розчин. Змішати розчин А з розчином В. Можна зберігати 1 рік при 2-8°С.

Хід визначення. Аналіз проводять при температурі реактивів, що дорівнює кімнатній. Вибрати потрібну кількість лунок. Піпеткою додати по 50 мкл стандарту, контролю та зразків у відповідні лунки. Піпеткою додати по 100 мкл ферментного реагенту ТТГ в кожну лунку. Перемішати мікропланшет 20-30 сек і накрити його пластиковою плівкою. Інкубувати

протягом 1 год при кімнатній температурі. Лунки декантувати, після чого планшет просушити на фільтрувальному папері. Зробити триразову промивку за допомогою 350 мл розчину для промивки. У кожну лунку додати по 100 мкл робочого розчину субстрату. Планшет не струшувати. Інкубувати при кімнатній температурі 15 хв. Розвиток забарвлення зупинити, додаючи в кожну клітинку 50 мкл стоп-розчину і перемішайте 15-20 сек. Через 30 хв після додавання стоп-розчину провести вимірювання величини поглинання вмісту осередків при довжині хвилі 450 нм. (референтна довжина хвилі 620-630 нм). Для аналізу даних ІФА можна використовувати комп'ютерне програмне забезпечення.

Концентрація ТТГ в сироватці крові залежить від: функції гіпоталамусу, щитоподібної залози, зв'язування з ТРГ тощо. Тому визначення однієї лише концентрації ТТГ недостатньо для оцінки клінічного статусу.

Референсні величини вмісту ТТГ у сироватці крові – 0,-4,0 мМО/л.

Визначення вмісту ЛНГ у сироватці крові.

Концентрацію ЛНГ у сироватці крові (венозна кров) вимірювали ферментативно-колориметричним методом. Аналізатор і тест-система Cobas 6000; Roche Diagnostics (Швейцарія) [26].

о 2,59 ммоль/л

Визначення коефіцієнта атерогенності.

Коефіцієнт атерогенності (КА) відображає співвідношення циркулюючих в крові атерогенних та неатерогенних ліпопротеїнів і розраховується за формулою: КА = ХС ЛНГ / ЛВГ.

Референсні значення – до 3 Од.

Визначення концентрації глюкози в сироватці крові глюкозооксидазним методом.

Принцип методу. Глюкозооксидаза каталізує перетворення глюкози до

глюконової кислоти та відновленого хромогену, який пероксидаза перетворює на окислений хромоген. Останній з 4-аміно-феназоном (4-аміно-антипуреном)дає забарвлення, за інтенсивністю якого визначають кількість глюкози [27].

Хід визначення. Дослідна проба – 0,5 мл 0,33 М хлорної кислоти, 0, 05 мл сироватки крові. У стандартній пробі замість сироватки – розчин глюкози.

Центрифугували 10 хв. при 3000 об/хв.

До супернатанту додавали глюкозооксидазу (активність 60000-120000 од/г), пероксидазу (активність 1100 од/г) та 0,148 мМ розчин 4-амінофеназону.

Інкубували при кімнатній температурі 30-60 хв або 10-20 хв при 37°С. Колориметрували при 490-540 нм.

Розрахунки: $С_{досл} = (С_{ст} – Е_{досл}) / Е_{ст}$, де

$С_{досл}$ – концентрація глюкози в дослідній пробі, ммоль/л;

$С_{ст}$ – концентрація глюкози в стандартній пробі, ммоль/л;

$Е_{досл}$ – екстинкція дослідної проби;

$Е_{ст}$ – екстинкція стандартної проби.

Визначення вмісту тироксину (Т4) в сироватці крові.

Тироксин – це основний гормон щитоподібної залози, що становить 90 % від усіх гормонів, які виробляються залозою. Він в основному знаходиться у зв’язаному стані з глобулінами крові. Лише 0,1 % перебуває у вільному стані. Саме вільний тироксин визначають для оцінки функції щитоподібної залози незалежно від білків. Цифра 4 у його назві показує, що в молекулі гормону міститься 4 атоми йоду. Тироксин утворений двома залишками тирозину і 4 атомами йоду.

Цей аналіз, як правило, проводять у комплексі з аналізом на вміст ТТГ. Якщо рівень Т4 знижений, то рівень ТТГ зростає, індукуючи синтез Т4 у щитоподібній залозі, і навпаки, при високому рівні Т4 синтез ТТГ інгібується.

Матеріалом дослідження слугує венозна кров (сироватка).

Методи досліджень – імуноферментний аналіз.

Референсні значення – 12-22 пмоль / л.

Визначення вмісту трийодтироніну (Т3) в сироватці крові.

Гормон Т3 – другий гормон щитоподібної залози, проте він в 10 разів активніший, ніж Т4. Т3 утворюється з Т4 шляхом відщеплення одного атома йоду.

Матеріалом дослідження слугує венозна кров (сироватка).

Методи досліджень – імуноферментний аналіз.

Референсні значення 2,1 - 6,7 пмоль/л

Розділ ІІІ
Результати та їх обговорення

Згідно з відомостями ВООЗ, 60-80% інформації, необхідної для постановки діагнозу та призначення лікування хворому, надають результати клініко-біохімічних лабораторних досліджень.

Щодо лабораторної діагностики функціонального стану щитоподібної залози, то ці дослідження можна проводити в трьох напрямках: визначення основних гормонів щитоподібної залози – Т3 і Т4 та гормону передньої частки гіпофізу – ТТГ, що є маркерами функціонального стану щитоподібної залози; визначення концентрації поліпептидів щитоподібної залози – тиреоглобуліну та кальцитоніну, які розглядають як основні онкологічні маркери; визначення антитіл до антигенів щитоподібної залози, що дозволяють діагностувати аутоімунні захворювавння щитоподібної залози.

Необхідним показником, за величиною якого оцінюють функціональну активність щитоподібної залози, вважається тиреотропний гормон гіпофізу – ТТГ. Проте інформативнішим є комплексне обстеження, яке передбачає одночасне визначення тиреоїдних гормонів щитоподібної залози – FT4 і FT3.

Рівень загального вмісту Т4 і Т3 має низьку інформативність, оскільки залежить від рівня транспортних протеїнів.

Вважають, що рівень ТТГ у крові є високочутливим тестом із специфічністю 90-96% для діагностики гіпо- і гіпертиреозу. За величиною вмісту ТТГ у сироватці крові можна діагностувати не лише маніфестні форми гіпо- та гіпертиреозу, а й субклінічні [28-30].

Субклінічний гіпотиреоз на нинішній день значно актуальніший, ніж маніфестний.

Поширеність субклінічного гіпотиреозу в світі за різними даними становить 4-15%, причому серед хворих більший відсоток становлять жінки, приблизно 8 % до 3,5 %.

Субклінічний гіпотиреоз переважно розглядається як наслідок аутоімунного тиреоїдиту. Однак можливі й інші причини підвищення вмісту ТТГ в крові, причому в деяких випадках зміни мають зворотний характер.

Субклінічний гіпотиреоз можна розглядати як початкову стадію маніфестної форми. Швидкість прогресування субклінічного гіпотиреозу залежить від титру антитіл до тиреопероксидази. У разі високого титру антитиреоїдних антитіл при нормальному рівні ТТГ маніфестний гіпотиреоз може розвинутися через два десятки років, але якщо рівень ТТГ підвищений на тлі підвищеного титру антитіл до тиреопероксидази, то швидкість прогресування гшіпотиреозу суттєво зростає.

Взагалі, факторами підвищеного ризику швидкого прогресування субклінічного гіпотиреозу в маніфестний є підвищений титр антитиреоїдних антитіл і вихідний рівень ТТГ >10 МО/л. [31-33].

З огляду на все сказане вище ми проаналізували рівень ТТГ у сироватці крові хворих на субклінічний та маніфестний гіпотиреоз. Результати подані на рисунку 1.

Рис.1. Рівень ТТГ у сироватці крові хворих га гіпотиреоз

Примітка: 1 – хворі на субклінічний гіпотиреоз
2 – хворі на маніфест ний гіпотиреоз

З рисунка 1 видно, що середній рівень тиреотропного гормону в сироватці крові хворих 1 групи становить 12 мМО/л, що в 2,4 рази перевищує верхню межу референсних величин. У хворих 2 групи з маніфестним гіпотиреозом рівень ТТГ у сироватці крові досягав 25 мМО/л, що у 5 разів перевищує допустимі величини.

Тиреотропний гормон за хімічною природою – глікопротеїн. Відомо, що секреція ТТГ передньою часткою гіпофізу посилюється у відповідь на зниження активності щитоподібної залози щодо продукування тиреоїдних гормонів. У відповідь на зниження рівня Т4 і Т3 в крові гіпоталамус запускає

вироблення тиреоліберину, який активує синтез ТТГ і посилену секрецію його в кров. Відповіддю на це має стати зростання тироксину та трийодтироніну в крові, оскільки ТТГ є основним регулятором секреції Т4 і Т3 щитоподібною залозою. Процес може відбуватися і в зворотному порядку. Зокрема, якщо у крові підвищений рівень тироксину чи трийодтироніну, то гіпоталамус виробляє і секретує в кров тиреостатин, який знижує рівень ТТГ і тим самим нормалізує роботу щитоподібної залози [34].

Таким чином ТТГ підтримує стабільний рівень продукування тиреоїдних гормонів у здоровій щитоподібній залозі. Проте при виникненні ушкоджень тканин щитоподібної залози навіть підвищений рівень ТТГ не в змозі активувати синтез та секрецію гормонів цим органом. Тоді розвивається первинний гіпотиреоз.

Ми проаналізували вміст основних гормонів FT4 і FT3 в сироватці крові хворих на гіпотиреоз. Це вільна форма тиреоїдних гормонів. Саме за вмістом у крові вільної форми (free) цих гормонів можна судити про активність щитоподібної залози, оскільки рівень FT4 і FT3 не пов’язані з вмістом транспортних протеїнів. Результати подані на рисунках 2 і 3.

Рис. 2. Рівень вільного тироксину в сироватці крові хворих на гіпотиреоз

Примітка:

1 – група хворих на субклінічний гіпотиреоз

2- група хворих на маніфестний гіпотиреоз

З рисунка 2 видно, що у хворих на субклінічний гіпотиреоз рівень FT4 знаходиться в середньому на нижній межі нормальних величин, а в усіх пацієнтів, яким діагностували маніфестний гіпотиреоз, концентрація даного гормону в сироватці крові знижена вдвічі.

Найчастіше субклінічний гіпотиреоз характеризується підвищеним вмістом ТТГ при нормальному рівні Т3 і Т4. Між тиреоїдними гормонами та

ТТГ в нормі існує зворотний негативний зв’язок. Для пояснення субклінічного гіпотиреозу S. Andersen et al. припустив, що відхилення Т3 і Т4 від індивідуальної норми, навіть якщо воно відбувається в межах референсних значень, проявляється вираженим підвищенням рівня ТТГ.

Можливо, саме така ситуація має місце у досліджуваних нами хворих 1 групи.

Щодо 2 групи пацієнтів, то тут картина класична рівень FT4 вдвічі менший від контрольного при підвищеному в 5 разів рівні ТТГ.

Рис. 3. Вміст вільного трийодтироніну в сироватці крові хворих на гіпотиреоз

Примітка:

1 – група хворих на субклінічний гіпотиреоз

2- група хворих на маніфестний гіпотиреоз

При зниженому рівні FT4 логічно знижується рівень FT3, оскільки трийодтиронін утворюється з тироксину шляхом відщеплення одного атома йоду.

Саме така закономірність відмічається у хворих 1 та 2 груп. На рис.3 видно дещо знижений рівень FT3 у хворих на субклінічний гіпотиреоз і у 2,5 разів знижений рівень даного гормону в групі хворих на маніфестний гіпотиреоз.

Таким чином встановлена у досліджуваних групах хворих класична картина зниженого продукування тиреоїдних гормонів щитоподібною залозою та регуляція її активності за допомогою підвищення секреції гормону передньої частки гіпофізу – ТТГ надає підстави діагностувати гіпотиреоз.

З літератури відомо, що зростання вмісту ТТГ у сироватці крові – ранній і чутливий маркер зниження резервів тиреоїдів, і, в сукупності зі зниженою концентрацією Т4, є діагностичним критерієм первинного

гіпотиреозу. Між гіпофізом і щитоподібною залозою існує негативний зворотний зв'язок. Первинна недостатність щитоподібної залози зменшує секрецію тиреоїдних гормонів, тим самим стимулюючи звільнення ТТГ з гіпофізу [35].

Причому величина показників досліджуваних гормонів надає можливість диференціювати субклінічну та маніфестну форму цього захворювання. Рівень показників FT4 і FT3, наближений до нижньої межі норми, при підвищеному вмісті ТТГ у сироватці крові хворих 1 групи свідчить про субклінічну форму гіпотиреозу, тоді як
суттєво знижений вміст FT4 і FT3 у сироватці крові хворих 2 групи на тлі 5-кратного підвищення секреції ТТГ свідчить про наявність у них маніфестної форми гіпотиреозу.

Відомо, що однією із біохімічних особливостей субклінічного гіпотиреозу є високий рівень холестеролу в крові за рахунок високого рівня атерогенної фракції ліпопротеїдів – ЛНГ.

Внаслідок того, що субклінічний гіпотиреоз супроводжується високим вмістом холестеролу, то це зумовлює прогресування атеросклерозу та розвиток серцево-судинних захворювань.

Зростання рівня ТТГ в крові відбувається паралельно з підвищенням вмісту атерогенних ліпідів, внаслідок чого розвивається атеросклероз [36].

Нами проаналізовано вміст ЛНГ у сироватці крові хворих на гіпотиреоз обох досліджуваних груп та проведено порівняльний аналіз їх коефіцієнта атерогенності.

Ліпопротеїни, які утворюються в печінці, являють собою транспортні форми ліпідів. Їх називають ЛДНГ. У крові вони можуть перетворюватися на ЛПГ і ЛНГ шляхом відщеплення жирних кислот . Утворені ЛНГ постачають холестерол до різних тканин і органів. У людини основна маса ЛНГ (β-ліпопротеїнів) утворюється в плазмі крові з ЛДНГ за дії ліпопротеїнліпази. В ході цього процесу спочатку утворюються проміжні короткоживучі ліпопротеїни, а потім формуються частинки, збіднені триацилгліцеролами і

збагачені холестеролом, тобто ЛНГ. Ці ліпопротеїнові комплекси потрапляють в клітину шляхом рецепторного ендоцитозу.

ЛВГ повертають надлишок холестеролу, що утворюється в тканинах, назад в печінку. Під час транспорту холестерол ацилюється жирними кислотами лецитину за участю лецитинхолестеролацилтрансферази. Між ЛВГ і ЛНГ відбувається обмін ліпідами і білками.

Рис. 4. Вміст ЛНГ у плазмі крові хворих на гіпотиреоз

Примітка:

1 – група хворих на субклінічний гіпотиреоз

2- група хворих на маніфестний гіпотиреоз

З рисунка 4 бачимо, що у всіх хворих на гіпотиреоз відмічається підвищений рівень холестеролу ЛНГ, тобто зростає вміст атерогенної фракції ліпідів – так званих β-ліпопротеїнів. Таким чином можемо сказати, що підвищений рівень ТТГ супроводжується підвищеним вмістом у крові атерогенних ліпідів.

Характеризуючи величину коефіцієнта атерогенності, який відображає співвідношення циркулюючих в крові атерогенних та неатерогенних ліпопротеїнів, можна сказати, що в обох дослідних групах вона перевищує допустиму межу. У хворих на субклінічний гіпотиреоз коефіцієнт атерогенності перевищує референсні величини в 1,5 рази, тоді як у хворих з маніфестним гіпотиреозом величина коефіцієнта атерогенності вище норми в 2,3 рази (рис.5).

Таким чином бачимо, що гіпотиреоз обох форм несе ризик розвитку атеросклерозу і, як наслідок, серцево-судинних захворювань.

Встановлено, що ризик смертності від серцево-судинних захворювань підвищується у хворих із рівнем ТТГ>7 МО/л.

За умови рівня ТТГ 10-19,9 МО/л ризик розвитку серцево-судинних захворювань зростає майже вдвічі, а ризик смертності від серцево-судинних захворювань збільшується в півтора рази.

За умов гіпофункції щитоподібної залози спостерігаються затримка рідини, порушення функцій лівого шлуночка, тобто розвивається серцева недостатність, хоча точні механізми її розвитку та прогресування на тлі субклінічного гіпотиреозу до кінця не з'ясовані [36].

Рис. 5. Коефіцієнт атерогенності у хворих на гіпотиреоз

Примітка:

1 – група хворих на субклінічний гіпотиреоз

2- група хворих на маніфестний гіпотиреоз

З літератури відомо, що гіпотиреоз веде за собою розвиток метаболічного синдрому, для якого характерні дисліпідемія, часто ожиріння, гіперглікемія внаслідок резистентності клітинних рецепторів до інсуліну.

З рисунка 6 видно, що всі обстежені хворі страждали гіперглікемією. Це, очевидно, наслідок нестачі вільного трийодтироніну, оскільки відомо, що Т3 інтенсифікує біосинтез білка, збільшує швдкість утилізації глюкози як основного джерела енергії в організмі, а також здійснює позитивний регуляторний вплив на катаболізм ліпідів [37].

Гіперглікемія – це один із проявів метаболічного синдрому, прояви якого, як бачимо, характерні і для вираженого, і для субклінічного гіпотиреозу.

Таким чином гіпофункція щитоподібної залози, навіть за умови , що рівень тиреоїдних гормонів – у межах допустимих величин, провокує розвиток метаболічного синдрому, і як наслідок – серцево-судинні захворювання [10, 38].

Рис.6. Вміст глюкози у сироватці крові хворих на гіпотиреоз

Примітка:

1 – група хворих на субклінічний гіпотиреоз

2- група хворих на маніфестний гіпотиреоз

Отже, субклінічний гіпотиреоз характеризується незначним зниженням рівня FT4 та FT3 у сироватці крові або навіть показниками їх вмісту на рівні референсних величин на тлі підвищення концентрації ТТГ у сироватці крові хворих.

При маніфестному гіпотиреозі значно знижується вміст у сироватці крові хворих вільних форм тироксину та трийодтироніну на тлі посиленої секреції тиреотропного гормона.

Як субклінічна, так і маніфестна форми гіпотиреозу характеризуються дисліпідемією з переважанням атерогенних фракцій ліпідів та гіперглікемією, що є проявами метаболічного синдрому, більше вираженого у хворих з маніфестною формою гіпотиреозу.

Висновки

1. Субклінічний гіпотиреоз характеризується незначним зниженням рівня FT4 та FT3 у сироватці крові або навіть показниками їх вмісту на рівні референсних величин на тлі підвищення концентрації ТТГ у сироватці крові хворих.

2. При маніфестному гіпотиреозі значно знижується вміст у сироватці крові хворих вільних форм тироксину та трийодтироніну на тлі посиленої секреції тиреотропного гормона.

3. Як субклінічна, так і маніфестна форми гіпотиреозу характеризуються дисліпідемією з переважанням атерогенних фракцій ліпідів та гіперглікемією, що є проявами метаболічного синдрому, більше вираженого у хворих з маніфестною формою гіпотиреозу.