

Механизмы формирования послеоперационной адаптации при комплексном лечении тиреопатий

Галяна А.Н.¹, Попов О.С.¹, Удут В.В.²

Mechanisms for formation of postoperative adaptation in complex treatment of thyropathy

Galyan A.N., Popov O.S., Udut V.V.

¹ Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск

² НИИ фармакологии СО РАМН, г. Томск

© Галяна А.Н., Попов О.С., Удут В.В.

Хирургическая коррекция тиреопатий неизбежно сопровождается специфическими изменениями гормонального статуса. Проанализированы формирующиеся адаптационные механизмы и компенсаторно-приспособительные реакции, отвечающие за систему жизнеобеспечения организма в целом. На основании взаимодействия ряда гомеостатов организма изучены неспецифические механизмы реализации резистентной и толерантной стратегии долговременной адаптации, сделаны предположения о возможности эффективного протекания адаптационных реакций в условиях трансплантации здоровой тиреоидной ткани и применения клеточной терапии.

Ключевые слова: адаптация, компенсаторно-приспособительные реакции, трансплантация, щитовидная железа, стволовые клетки, гормональная система.

Surgical thyropathy correction is inevitably accompanied by specific changes in hormonal status. We have analyzed the adaptation mechanisms and compensatory and adaptive reactions responsible for the whole life-support system of organism. On the basis of a number of organism homeostats nonspecific mechanisms of resistant and tolerant realisation strategies of long-term adaptation were studied, suppositions were made on possible effective course of adaptation reactions in the conditions of healthy thyroidal issue transplantation and cellular therapy use.

Key words: adaptation, adaptive and compensatory reactions, transplantation, thyroid gland, stem cells, hormone system.

УДК 616.441008.63089.168.1003.96

Введение

Прогрессивно нарастающая патология щитовидной железы (ЩЖ) все чаще требует хирургической коррекции. Однако послеоперационный период сопровождается функциональными нарушениями, которые при неадекватной коррекции могут существенно снижать качество жизни. В определении показаний к хирургическому вмешательству всегда учитывается гормональный фон сопровождения тиреопатии. Гипер- или гипотиреоз формируется достаточно долго и в клиническом аспекте представляет собой не только гормональную дисфункцию, но и состояние с выраженными особенностями адаптации к стрессорам [3, 17]. Эутиреоидное состояние достигается посредством грамотно подобранной гормональной терапии либо изначально характеризует тиреопатию (по гормональному статусу) с соответствующими адаптационными реакциями, при котором в большинстве случаев и происходит оперативное лечение [13].

Как правило, после удаления щитовидной железы развивается послеоперационный гипотиреоз [4, 9], требующий обязательной заместительной терапии. Учитывая, что мишенями тиреоидных гормонов выступают обменные процессы в клетке, можно предположить, что изменение специфического гормонального статуса, сформировавшееся в результате проявления патологических процессов в тканях ЩЖ и в послеоперационном периоде, определяет и различные стратегии долговременной адаптации [6, 7].

Особое значение имеет экспериментально обоснованное предположение о возможности более эффективной коррекции послеоперационного гормонального дисбаланса и развитии адаптационной стратегии, когда удаление ЩЖ сочетается с трансплантацией здоровой ее ткани и введением в трансплантат аутологичных полипотентных мезенхимальных стромальных клеток (АПМСК), стимулирующих морфофункциональную состоятельность тиреоидной ткани [1, 2, 5, 9–11, 14–16].

Цель исследования — проанализировать формирующиеся адаптационные механизмы и компенсаторно-приспособительные реакции у больных с патологией ЩЖ после хирургической коррекции, отвечающие за систему жизнеобеспечения организма в целом; на основании взаимодействия ряда гомеостатов организма изучить неспецифические механизмы реализации резистентной и толерантной стратегии долговременной адаптации в послеоперационном периоде; показать в эксперименте возможности оптимизации протекания адаптационных реакций в условиях трансплантации здоровой тиреоидной ткани и применения клеточной терапии.

Материалы методы

Клиническое исследование проведено в послеоперационном периоде у 416 больных (98 мужчины 318 женщин) с эутиреоидным (I-я группа) и у 111 (27 мужчины 84 женщины) с гипотиреоидным (2-я группа) состоянием. В исследуемых группах в 68% случаев выполнялась тиреоидэктомия и в 32% субтотальная резекция ЩЖ до тиреоидэктомии. Контрольную группу составили 26 здоровых добровольцев (7 мужчин и 19 женщин).

Состояние вегетативной нервной системы (ВНС) оценивали по данным вариационной пульсометрии (тонус, реактивность, индекс напряжения). Состояние центральной гемодинамики и органного кровотока определяли реографическим методом. Иммуноферментным методом определяли концентрацию стрессреализующих тиреоидных гормонов — инсулина, кортизола, адренкортикотропного гормона (АКТГ), тиреотропного гормона (ТТГ), трийодтиронина (T_3), тироксина (T_4).

Состав периферической крови и ее биохимические показатели оценивали классическими методами. Типы адаптационных реакций оценивали по соотношению форменных элементов периферической крови с учетом уровня кортизола, субпопуляции Т- и В-лимфоцитов (CD-идентификация, CD 4, CD 8, CD 4/CD 8) методом иммунофлюоресценции с использованием наборов специфических моноклональных антител. Содержание иммуноглобулинов (Ig) A, M, G определяли методом радиальной иммунодиффузии.

Экспериментальное исследование проведено на 150 крысах-самцах линии Вистар массой 350 г, которым под эфирным масочным наркозом выполнена тиреоидэктомия и трансплантация ткани ЩЖ в прядь большого сальника в виде участка доли или его гомогенизата с введением в трансплантат АПМСК.

Животные были разделены на группы (по 32 в I—III группах, 34 — в IV группе): I — с трансплантацией участка

ткани ЩЖ; II — с трансплантацией тканевого гомогенизата ЩЖ; III — с трансплантацией участка ткани ЩЖ и введением в трансплантат 500 тыс. АПМСК; IV — с трансплантацией тканевого гомогенизата ЩЖ и введением в трансплантат 500 тыс. АПМСК. Контрольная группа — 20 интактных крыс.

АПМСК готовили по следующей методике. Получали суспензию костномозговых клеток в 1 мл препаровочной среды, содержащей 95% RPMI-1640 и 5% ЭТС. После фильтрации, отмывания и центрифугирования взвесь клеточных элементов в 5 мл препаровочной среды помещали в чашку Петри в CO_2 -инкубатор с 5% CO_2 при температуре 37 °C на 90 мин. Путем клонирования *in vitro* в полувязкой культуральной метилцеллюлозной среде с добавлением L-глутамина определяли содержание КОЕФ во вводимой клеточной взвеси, составившее $(476,6 \pm 25,6) \cdot 10^6$ нуклеаров, а мезенхимальных стволовых клеток — $(113 \pm 12) \cdot 10^6$ трансплантируемых клеток (методом лимитирующих разведений).

Адгезирующие элементы отделяли с помощью 0,25%-го раствора трипсина и 0,02%-го раствора ЭДТА в соотношении 1:1 в течение 15 мин при тех же условиях. Клетки двукратно отмывали, разводили до концентрации 500 тыс. клеток в 0,2 мл препаровочной среды и вводили в трансплантат.

Через 30 и 90 сут иммуноферментным методом определяли уровень ТТГ, T_3 общего, T_4 общего, T_3 свободного, T_4 свободного, проводили гистологическое исследование и морфометрию (ув. 160).

Количественные показатели выражались в виде $M \pm m$, где M — среднее значение, m — стандартная ошибка среднего. Внутри- и межгрупповые различия показателей оценивались с использованием непараметрического U -критерия Манна-Уитни. Различия принимали статистически значимыми при $p < 0,05$. Для оценки силы и направленности взаимосвязей между признаками вычисляли коэффициент корреляции r Спирмена. Связи считали сильными и значимыми, если коэффициент корреляции по модулю превышал 0,5.

При анализе структур рассчитанных взаимосвязей между параметрами учитывали общее число значимых r , увеличение которого расценивалось как жесткость взаимодействия и, следовательно, как напряжение регуляции функциональной системы; соотношение положительных и отрицательных обратных связей (преобладание отрицательных обратных связей) расценивалось как физиологичное, преобладание положительных обратных и прямых связей между параметрами иерархически разноразноуровневых функциональных систем — как жесткий регуляторный надзор со стороны вышеле-

стоящих систем и (или) как определенная потеря автономности— саморегуляции).

Результаты и обсуждение

Коррекция нарушений тиреоидного статуса в послеоперационном периоде проводилась с индивидуальным подбором доз тиреоидных препаратов (L-тироксин или эутирокс). Клинические проявления заболевания характеризовались активацией симпатико-адреналовой системы в группе с исходным эутиреоидным состоянием. Специфические различия в гормональном профиле между 1-й и 2-й группами определяли по T_4 и ТТГ, а по отношению к контролю— по ТТГ (таблица). Сохранение различий в группах в концентрации ТТГ не сказывалось на конечных проявлениях эффектов активного T_3 , что позволяет говорить об успешной коррекции специфических нарушений гормонального профиля.

Наиболее значимые различия оцениваемых параметров установлены для показателей, характеризующих вегетативное обеспечение функций, для соотношения стресс-реализующих и лимитирующих гормонов и концентрации сегментоядерных нейтрофилов в периферической крови. При оценке тонуса и реактивности ВНС в группах получены следующие результаты.

В 1-й группе зарегистрировано явное преобладание эутони-

ков (76,2%) и парасимпатотоников (12,5%), а во 2-й группе у подавляющего большинства больных (82,1%) зарегистрирована симпатикотония, а парасимпатотонические реакции регистрировались у незначительного числа пациентов (2,4%). Индекс напряжения регуляторных систем у больных в 1-й группе, определяемый по данным вариационной пульсометрии, значительно уступал показателям во 2-й и контрольной группах (таблица). Концентрация кортизола, инсулина и их соотношение у пациентов 1-й группы отличались от значений 2-й и контрольной групп (таблица), характеризуясь элементами энергосберегающего состояния [8].

У пациентов 2-й группы преобладали затратные фазы общего адаптационного синдрома (ОАС)— стресс, напряжение и повышенная активация, суммарно составившие 84,6%. У больных 1-й группы преобладали реакции тренировки (67,4%) и спокойной активации (32,5%). В контрольной группе фазы ОАС распределились следующим образом: зона повышенной активации— 21%, зона спокойной активации— 32%, тренировка— 47%.

Показатели красной крови в группах имели различия (таблица) с развитием в 1-й группе умеренных явлений гипорегенераторной анемии [7]. Иммунный статус у обследуемых пациентов также имел различия.

Характеристики анализируемых гомеостатов в группах наблюдения ($M \pm m$)

Показатель	Контроль	Эутиреоз	Гипотиреоз
T_3 , нмоль/л	1,8 ± 0,6	3,6 ± 1,8* **	1,4 ± 0,9**
T_4 , нмоль/л	115,0 ± 47,9	175,0 ± 73,2	58,4 ± 27,3**
ТТГ, мЕД/л	1,32 ± 0,06	0,22 ± 0,09* **	4,72 ± 1,95* **
Индекс напряжения регуляторных систем, усл. ед.	265,5 ± 39,8	119,2 ± 17,6* **	415,7 ± 23,3* **
Кортизол, нмоль/л	598,7 ± 27,9	527,6 ± 22,9* **	661,6 ± 31,8* **
Инсулин, мкЕД/л	4,01 ± 0,32	4,39 ± 0,21	3,97 ± 0,15
Кортизол/инсулин	136,25 ± 16,72	123,2 ± 12,3	152,56 ± 11,21**
Лейкоциты, 10^9 /л	5,97 ± 0,24	6,79 ± 0,21	6,12 ± 0,09
Сегментоядерные нейтрофилы, 10^9 /л	3,31 ± 0,11	3,97 ± 0,12* **	3,42 ± 0,08**
Базофилы, 10^9 /л	0,02 ± 0,01	0,13 ± 0,01	0,05 ± 0,03
Эозинофилы, 10^9 /л	0,12 ± 0,02	2,84 ± 0,16* **	1,09 ± 0,15* **
CD4/CD8	1,89 ± 0,27	1,18 ± 0,12* **	2,12 ± 0,11**
IgG, Г/л	15,34 ± 1,33	16,29 ± 1,12	19,35 ± 2,15* **

* Статистически значимые различия по сравнению с контрольной группой, $p < 0,05$.

** Статистически значимые различия между группами пациентов с тиреопатиями, $p < 0,05$.

В 1-й группе отмечено значительное снижение регуляторного индекса (CD4/CD8), в то время как уровень IgG находился в пределах верхней границы нормы. Во 2-й группе зафиксировано значимое повышение регуляторного индекса CD4/CD8 и уровня IgG до (19,35 ± 2,15) Г/л, что может свидетельствовать о энергозатратности поддержания гомеостаза в данной группе.

Различия в состоянии изучаемых функциональных систем организма между сравниваемыми группами демонстрируют энергозатратные механизмы поддержания гомеостаза во 2-й группе.

Для детализации информации о состоянии компенсаторно-приспособительных реакций организма проведен анализ структур взаимодействия изучаемых гомеостатов. При-

нимая за аксиому связь числа и качества зависимостей с напряженностью и адекватностью адаптации, изменение этих характеристик по отношению к состоянию физиологического оптимума — здоровья (рис. 1) — расценивали как вариант возможного нарушения процессов приспособления [12].

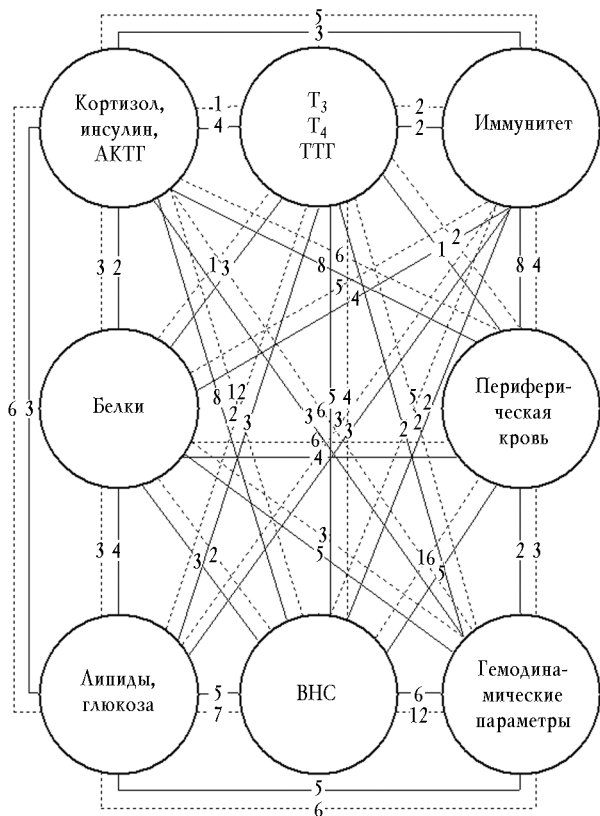


Рис. 1. Структура межсистемных взаимодействий на основе анализа корреляционной матрицы в контрольной группе. Здесь и на рис. 2 и 3: сплошные линии — положительные коэффициенты корреляции; пунктирные — отрицательные. Цифра указывает число значимых

При анализе указанных параметров в 1-й группе (рис. 2) отмечена отличная от физиологического состояния здоровья структура корреляционной матрицы: снижение общего числа r по сравнению с контролем (217 и 230 соответственно), хотя соотношение прямых и обратных r сопоставимы (116 отрицательных и 101 положительный в 1-й группе и 127 отрицательных и 103 положительных в контроле). Выявлено снижение значимых r -связей между параметрами ВНС и специфического гормонального статуса с остальными гомеостатами, что свидетельствует о выполнении функции системоорганизующей формации в данной группе контуром стресс-реализующих (лимитирующих) гормонов совместно с системой вегетативного обеспечения функций и характери-

зуется преобладанием положительных r -связей (77) по сравнению с контролем (65).

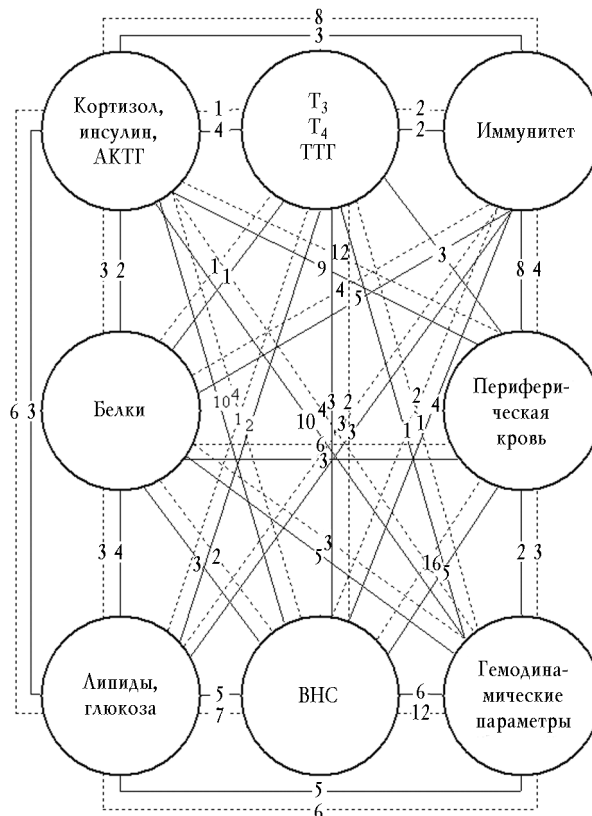


Рис. 2. Структура межсистемных взаимодействий на основе анализа корреляционной матрицы в 1-й группе (эутиреоидное состояние)

Во 2-й группе (рис. 3) выявлено наибольшее общее число значимых r (270). Возрастает число значимых r , приходящихся на специфический гормональный статус (61) и параметры ВНС (98), по сравнению с контролем, отмечено усиление влияния центральной нервной системы (ЦНС) и гормонального контура регуляции, обеспечиваемого стресс-лимитирующими и реализующими гормонами, что принципиально отличает группы с установленными тиреопатиями [17].

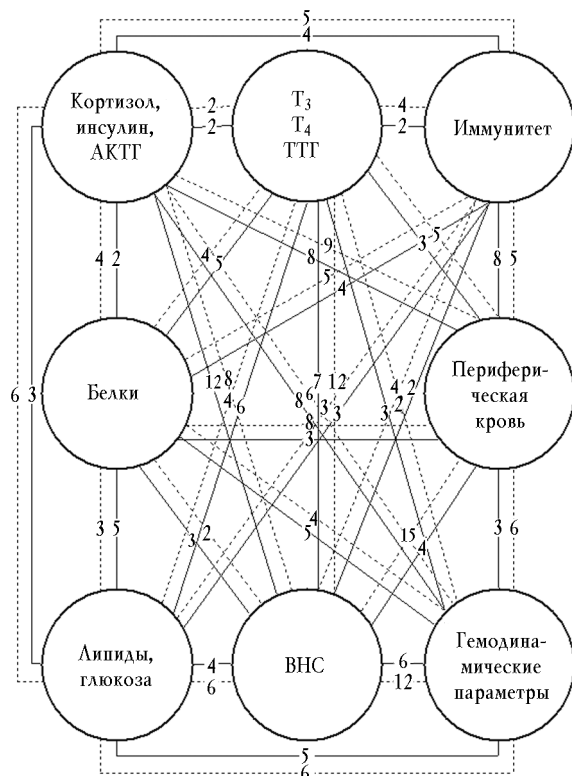


Рис. 3. Структура межсистемных взаимодействий на основе анализа корреляционной матрицы во 2-й группе (пипотиреозное состояние)

Из выявленных закономерностей следует, что у пациентов 1-й и 2-й групп формируются различные механизмы реализации компенсаторно-приспособительных реакций. При тиреопатиях, характеризующихся эутиреозом, формируется энергосберегающий механизм компенсаторно-приспособительных реакций, а при гипотиреозных состояниях регистрируется напряжение регуляторных механизмов в виде приоритетного участия оперативных систем нейрогуморального обеспечения функций (ЦНС, ВНС, стресс-реализующие гормоны).

Принимая во внимание напряженность компенсаторно-приспособительных механизмов реализации адаптации у пациентов с послеоперационным гипотиреозом и все же имеющийся набор адаптационных реакций по отношению к состоянию здоровья у пациентов с компенсированным послеоперационным гормональным статусом, была предпринята попытка экспериментального подтверждения предположения о более быстром восстановлении гормонального дисбаланса и, как следствие, реализации долговременной стратегии адаптации по энергосберегающему типу путем сочетания удаления щитовидной железы с аутотрансплантацией

здоровой тиреоидной ткани в условиях применения клеточных технологий [1, 2, 5, 9–11, 14–16].

Экспериментальные данные показывают, что через 30 сут после трансплантации ткани ЩЖ отмечено значительное снижение концентрации ТТГ во всех группах животных. Через 90 сут отмечено наиболее близкое к контролю значение ТТГ в III группе ($0,047 \pm 0,003$ мМЕ/л). Показатели свободного T_4 в I и II группах через 30 сут наблюдения находились на уровне $(15,18 \pm 5,95)$ и $(28,63 \pm 7,96)$ пмоль/л соответственно, а в группах III и IV его уровень повысился, достигая максимума в IV группе ($37,04 \pm 4,42$ пмоль/л). Через 90 сут показатели свободного T_4 значительно увеличились с максимальным значением $(52,76 \pm 3,63)$ пмоль/л в III группе. Концентрация свободного T_3 через 30 сут наблюдения составила $(10,34 \pm 2,55)$ в I группе и $(7,14 \pm 1,06)$ пмоль/л во II группе, а в III и IV группах — $(4,71 \pm 0,12)$ и $(4,68 \pm 0,22)$ пмоль/л соответственно. Через 90 сут значения свободного T_3 в группах III и IV выросли вдвое. Через 30 сут показатели общего T_4 снизились во всех группах (минимум в I группе — $37,32 \pm 12,01$ нмоль/л) с последующим восстановлением до контрольных цифр. Значения общего T_3 в группах III и IV сопоставимы с контролем, а в I и II группе отмечается превышение указанного показателя.

Данные значения гормонального статуса свидетельствуют об имеющихся гормональных ответах во всех группах, причем более ярко это прослеживается в III и IV группах, что может свидетельствовать о лучшей адаптации трансплантата и повышении его функциональной активности на фоне клеточной стимуляции АПМСК. Увеличение концентрации тиреоглобулина в III и IV группах на этапах наблюдения по сравнению с контролем может свидетельствовать об активизации тиреоидного синтеза и восстановлении тиреоидного обмена. Уровень тиреокальцитонина максимален в IV группе через 90 сут — $(21,7 \pm 3,3)$ пг/л (контроль $5,9 \pm 0,8$ пг/л) что также доказывает функциональную активность С-клеточного аппарата.

Возможность дифференцировки АПМСК в функционально самодостаточную тиреоидную ткань подтверждается данными сравнительного морфологического исследования при ув. 160. По результатам морфометрии в III и IV группах тиреоидные фолликулы более крупные, стратифицированные, содержат большее количество коллоида, менее выражены явления склероза, активно идет процесс ангиогенеза, что также подтверждает функциональную состоятельность трансплантата.

Полученные экспериментальные данные обосновывают перспективность представленного комплексного подхода в лечении тиреопатий в целом и коррекции послеоперационных расстройств в частности, он позволит более быстро добиваться сбалансированности компенсаторно-приспособительных механизмов реализации адаптации.

Заключение

Таким образом, несмотря на медикаментозную коррекцию тиреоидного статуса в послеоперационном периоде до эутиреоза, имеются различия в механизмах обеспечения гомеостаза у пациентов с разной исходной гормонопродукцией. Это может характеризоваться как напряжением регуляции с задействованием оперативных систем нейрогуморального обеспечения функций, так и энергосберегающими путями реализации адаптации. Коррекцию тиреоидного статуса можно осуществить эффективнее при использовании комплексной методики аутотрансплантации здоровой тиреоидной ткани в условиях применения клеточной терапии.

Литература

1. Бондаренко Т. П., Божок Г. А., Алабедалькарм Н. М. та інш. Ксенотрансплантація криоконсервованого ендокринного матеріалу як метод корекції гіпофункції залоз в експерименті // Трансплантологія. 2003. Т. 4, № 4. С. 60—63.
2. Гнилорыбов Т. Е. Гомотрансплантация эндокринных желез // Трансплантация органов и тканей. М., 1966. С. 667.
3. Гольдберг Е. Д., Дыгай А. М., Удут В. В. и др. Закономерности структурной организации систем жизнеобеспечения

4. чения в норме и при развитии патологического процесса. Томск: Издво Том. ун-та, 1996. 292 с.
5. Калинина П., Киселёва Т. П. Аутоиммунный тиреоидит: методические рекомендации. М.: 1991, 19 с.
6. Кипренский Ю. В., Ермакова И. П., Аметова С. и др. Микрохирургическая аллотрансплантация щитовидно-паращитовидного комплекса // Современ. проблемы эксперим. и клинич. эндокринологии: Тез. докл. 4-го съезда эндокринологов УССР. Киев, 1987. С. 176—177.
7. Кулинский В. И., Ольховский В. А. Две адаптационные стратегии в неблагоприятных условиях — резистентная и толерантная роль гормонов и рецепторов // Успехи современ. биологии. 1992. Т. 112. Вып. 5—6. С. 697—714.
8. Новицкий В. В., Козлов Ю. А., Лаврова В. С., Шевцова Н. М. Гемопоз, гормоны, эволюция. Новосибирск: Наука, 1997. 432 с.
9. Панин Л. Е. Биохимические механизмы старения. Новосибирск: Наука, 1983. 434 с.
10. Пат. 2161917 РФ 20.01.2001 г. / Попов О. С., Удут В. В., Титов Д. С. и др. Способ профилактики послеоперационного гипотиреоза.
11. Попов О. С., Галяна А. Н., Ставрова Л. А. и др. Динамика функционального состояния трансплантата щитовидной железы в условиях стимуляции аутологичными адгезирующими костномозговыми клетками // Клеточные технологии в биологии и медицине. 2005. № 4. С. 200—202.
12. Скалецкий Н. Н., Загребина О. В. Флотирующие культуры, получаемые из щитовидной железы плодов человека и трансплантация их больным гипотиреозом // Трансплантация органов. Львов, 1990. С. 124—125.
13. Судаков К. В. Стресс: постулаты, анализ с позиции общей теории функциональных систем // Патолог. физиология и эксперим. терапия. 1992. № 4. С. 86—93.
14. Эндокринология и метаболизм / Под ред. Ф. Флеминга М.: Медицина 1985. Т. 2. С. 416.
15. Matsumoto M., Ishiguro H., Tomita Y. et al. The changes of thyroid function after transplantation of marrow in young patients // *Pediatr Int.* 2004. Jun. № 46 (3). P. 291—295.
16. Parr E. L., Bowen K. M., Lafferty K. J. Cellular changes in cultured mouse thyroid glands and islets of Langerhans // *Transplantation.* 1980. V. 30. P. 135—141.
17. Reigh-Yi Lin, Atsushi Kubo, Gordon M. Keller et al. Ability of stem cells to differentiate into thyrocyte-like cells *in vitro* // *Endocrinology.* 2003. V. 144, № 6. P. 2644—2649.
18. Udut V. V., Naumov S. A., Karpov A. B. et al. Structural organisation of life support systems at pathologic process development // *Pathophysiology.* 1995. № 2. P. 123—127.

Поступила в редакцию 19.03.2009 г.

Утвержден к печати 17.06.2009 г.

Сведения об авторах

А. Н. Галяна — канд. мед. наук, ассистент кафедры общей хирургии СибГМУ (г. Томск).

О. С. Попов — д-р мед. наук, профессор кафедры общей хирургии СибГМУ (г. Томск).

В. В. Удут — заслуженный деятель науки РФ, д-р мед. наук, профессор, зам. директора по научной и лечебной работе НИИ фармакологии СОРАМН (г. Томск).

Для корреспонденции

Галяна Андрей Николаевич тел.: 8 (3822) 53-42-15, 53-32-81.