

616.44
Ш 62
74

На правах рукописи

ШИН Евгения Федоровна

**БИОМОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕТОДЫ РАЗРАБОТКИ
НОВОГО РЕЖИМА ЛЕЧЕНИЯ
СУБКЛИНИЧЕСКОГО И МАНИФЕСТНОГО
ГИПОТИРЕОЗА**

14.00.25-фармакология, клиническая фармакология

АВТОРЕФЕРАТ

**диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук**

Волгоград 2007



Работа выполнена в ГОУ ВПО «Ростовский государственный
медицинский университет Федерального агентства
по здравоохранению и социальному развитию»

НАУЧНЫЙ РУКОВОДИТЕЛЬ:

доктор медицинских наук, профессор
Макляков Юрий Степанович

НАУЧНЫЙ КОНСУЛЬТАНТ:

доктор медицинских наук
Сарвилина Ирина Владиславовна

ОФИЦИАЛЬНЫЕ ОППОНЕНТЫ:

доктор медицинских наук, профессор
Стаценко Михаил Евгеньевич
доктор медицинских наук, профессор
Батурин Владимир Александрович

ВЕДУЩАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ: Кубанский государственный
медицинский университет

Защита диссертации состоится «16» февраля 2007 г. в 12 часов
на заседании диссертационного совета Д 208.008.02 при Волгоградском госу-
дарственном медицинском университете
(400131, Россия, г. Волгоград, ул. Павших борцов, 1).

С диссертацией можно ознакомиться в фундаментальной библиотеке
Волгоградского государственного медицинского университета по адресу:
400131, Россия, г. Волгоград, ул. Павших борцов, 1

Автореферат разослан «___» января 2007 года

Ученый секретарь
диссертационного совета,
доктор медицинских наук, профессор

Бабаева А.Р.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. Проблемы тиреодологии приобрели особую актуальность, т.к. по своей распространенности заболевания щитовидной железы (включая их скрытые формы) превосходят сахарный диабет. В зарубежной медицинской литературе появляется все больше информации о влиянии тиреодной патологии на качества жизни (КЖ) детей, подростков и взрослого населения [Vanderpump M.J. и соавт., 1995, Aghini-Lombardi F. и соавт., 1999, Мельниченко Г.А., 2003]. Тиреодная дисфункция приводит к возникновению таких осложнений со стороны различных органов и систем, как систолическая и диастолическая дисфункция, мягкая диастолическая гипертензия, атерогенная дислипидемия, ишемическая болезнь сердца, расстройства когнитивных функций, а также поведенческие нарушения. В медицинской литературе большое внимание уделяется распространенности гипотиреоза. По данным зарубежных исследований общая распространенность манифестного гипотиреоза (МГ) в популяции составляет 0,2 – 2%, субклинического гипотиреоза (СГ) – 7 – 10% среди женщин и 2 – 3% среди мужчин [A.Gordin и соавт., 1972, R.Eggertsen и соавт., 1988, Vanderpump M.J. и соавт., 1995]. В России эпидемиологические исследования, посвященные распространенности гипотиреоза и его осложнений, находятся в самом начале. По данным Министерства здравоохранения и социального развития Ростовской области гипотиреоз у подростков регистрируется у 35 человек ежегодно, у взрослых – у 2877 человек ежегодно.

В настоящее время не существует научно обоснованных клинических рекомендаций по эффективному и безопасному способу лекарственной профилактики аутоиммунного тиреоидита (АИТ), являющегося основной причиной гипотиреоза, за исключением заместительной терапии уже развившегося гипотиреоза. Эффективная лекарственная профилактика гипотиреоза должна быть направлена на снижение титра аутоантител, быстрое подавление воспалительной активности, уменьшение активности апоптотических процессов, появляющихся уже в стадии СГ. Спорным остается вопрос о необходимости назначения пациентам с СГ левотироксина. По-прежнему открытой является проблема фармакологической коррекции иммунных нарушений у данного контингента больных. Назначение левотироксина пациентам с МГ не подвергается сомнению. Однако активность аутоиммунных процессов при МГ остается высокой, несмотря на назначение левотироксина. До сих пор отсутствует объективная оценка влияния левотироксина на молекулярные звенья, лежащие в основе аутоиммунного процесса при гипотиреозе, с последующим определением новых мишеней для перспективных лекарственных средств. Становится очевидным, что решение проблемы доказательной фармакотерапии СГ и МГ возможно на основе новых высокотехнологических биоаналитических методов и математических решений, составляющих основу технологической платформы оптимизации лечения гипотиреоза. Актуальность данной темы связана с необходимостью усовершенствования протокола ведения больных с гипотиреозом на основе доказательных данных научных исследований с предоставлением объектив-



ной информации об эффективности и безопасности режимов терапии СГ и МГ.

Целью настоящей работы является разработка системы высокоспецифичных биомолекулярных методов оценки эффективности и безопасности нового режима фармакотерапии СГ и МГ.

Для достижения указанной цели представляется необходимым решение **следующих задач:**

- исследовать влияние терапии левотироксином и его комбинации с глутоксимом на нейроэндокринное и иммуно-метаболическое звенья патогенеза СГ и МГ на основе новых биоаналитических методов;

- провести масс-спектральный анализ основных белков – биомаркеров прогрессирования гипотиреоза в плазме крови на фоне стандартного и нового режимов лечения;

- выявить корреляционные взаимосвязи показателей гормонального профиля крови с показателями протеомного профиля крови на фоне приема левотироксина и его комбинации с глутоксимом у пациентов с СГ и МГ;

- выявить чувствительные и специфичные параметры оценки эффективности применения левотироксина и глутоксима у пациентов с СГ и МГ;

- исследовать особенности фармакокинетики левотироксина у пациентов с СГ и МГ в условиях стандартного режима терапии (СРТ) и комбинированного приема с глутоксимом;

- провести оценку КЖ пациентов с СГ и МГ на фоне СРТ и нового режима лечения;

- провести клинико-экономическое обоснование целесообразности применения нового режима лечения СГ и МГ и новой системы оценки его эффективности и безопасности.

Научная новизна работы. В работе впервые представлены закономерности динамики гормонального, метаболического и иммунного профиля плазмы крови пациентов с СГ и МГ на фоне СРТ и нового режима лечения.

Впервые в работе показаны корреляционные взаимосвязи между параметрами гормонального и протеомного профиля крови пациентов с СГ и МГ на фоне терапии левотироксином и его комбинации с глутоксимом, что позволило выявить и рекомендовать чувствительные и специфичные показатели эффективности и безопасности при разработке нового режима лечения.

В работе представлен анализ особенностей фармакокинетических (ФК) параметров и выраженности фармакодинамических эффектов левотироксина с оценкой его фармакокинетической/фармакодинамической (ФК/ФД) модели в группах пациентов с СГ и МГ на основе новых биоаналитических методов исследования.

В диссертационной работе представлена новая комплексная схема механизма реализации фармакодинамических эффектов левотироксина и глутоксима в условиях гипотиреоза, предполагающая анализ перспективных биомолекулярных целей для разработки новых лекарственных средств.

В работе впервые выполнена сравнительная клинико-экономическая

оценка работы стандартной системы и новой системы высокотехнологических биоаналитических методов для разработки режимов лечения гипотиреоза.

Практическая ценность работы.

Диссертационная работа выполнена в рамках комплексно-целевых научных программ «Медико-биологические проблемы», «Разработка новых методов клинической оценки действия лекарственных веществ». Тема выполнена в НИР РостГМУ. Утверждена на заседании Ученого совета РостГМУ (Протокол № 5 от 31 мая 2006 года).

Полученные данные позволяют рекомендовать новую систему биомолекулярных методов оценки эффективности и безопасности новых режимов лечения СГ и МГ при внедрении их в клиническую практику.

В диссертационной работе разработаны показания к началу терапии левотироксином в группе пациентов с СГ.

Для внедрения в клиническую практику предложена разработанная система терапевтического лекарственного мониторинга (ТЛМ) левотироксина для пациентов с СГ и МГ как лекарственного средства с узким терапевтическим диапазоном.

В диссертационной работе впервые разработана система оценки КЖ пациентов с гипотиреозом, которая может быть рекомендована для оценки качества лекарственной помощи в повседневной практике врачей-эндокринологов.

Результаты клинико-экономического анализа работы двух систем оценки эффективности и безопасности различных режимов лечения гипотиреоза, а также СРТ и нового режима терапии являются основой для принятия решения о включении лекарственных средств в Протоколы ведения пациентов с СГ и МГ.

Реализация результатов исследования. Материалы диссертации используются в работе поликлиники и эндокринологического отделения городской больницы №7, терапевтического отделения Областного консультативно-диагностического центра. Полученные результаты включены в материалы лекций и семинаров для студентов, интернов и ординаторов на кафедре фармакологии и клинической фармакологии РостГМУ.

На защиту выносятся следующие положения:

1. Закономерности изменения показателей работы нейроиммуноэндокринных сетевых взаимодействий в организме пациента на фоне СРТ и нового режимов лечения гипотиреоза.

2. Разработанная система специфичных и чувствительных показателей биомолекулярных методов оценки эффективности новых режимов лечения гипотиреоза.

3. Новая интегральная схема механизма реализации фармакодинамических эффектов левотироксина и глутоксима на молекулярном уровне у пациентов с гипотиреозом.

4. Особенности фармакокинетики левотироксина при монотерапии и его комбинированном приеме с глутоксимом пациентами с СГ и МГ.

5. Динамика параметров шкал оценки КЖ пациентов с СГ и МГ в условиях

присма нового режима терапии.

6. Доминирующая экономическая альтернатива при применении новой системы методов оценки эффективности и безопасности режимов лечения гипотиреоза.

Апробация работы. Материалы диссертации доложены на ежегодных Итоговых научных конференциях студентов, молодых ученых и специалистов РостГМУ (г. Ростов-на-Дону, 2001-2004 гг.), на IX и XIII Российском национальном Конгрессе «Человек и лекарство» (г. Москва, 2002-2004 гг.), научно-практической конференции «Управление качеством в здравоохранении: лицензирование, стандартизация, клинико-экономический анализ» (г. Москва, 2005г.).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 13 печатных работ.

Структура и объем диссертации. Диссертация изложена на 193 страницах машинописного текста, состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, главы собственных исследований, обсуждения, заключения, практических рекомендаций, выводов и списка литературы, включающего 121 источник (из них отечественных - 23 источника, иностранных - 98 источников). Работа иллюстрирована 42 таблицами и 40 рисунками.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ КЛИНИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ

Протокол клинического исследования

Клиническое исследование проводилось в соответствии с «Правилами проведения качественных клинических испытаний (GCP)» (ОСТ №42-511-99 от 29.12.98 г.), «Положением о порядке проведения экспертизы эффективности и безопасности лекарственных средств» (№ 291-22/81 от 04.11.99 г.), Приказом №103 «О порядке принятия решения о проведении клинических исследований лекарственных средств» (от 24.03.2000 г.).

Настоящее исследование являлось открытым, пострегистрационным, проспективным, в параллельных группах. Основной целью исследования являлась разработка новых методов оценки эффективности и безопасности нового режима фармакотерапии СГ и МГ на основе изучения нейроиммуноэндокринных сетевых взаимодействий. Вторичными целями исследования являлись увеличение продолжительности жизни, улучшение КЖ пациентов с гипотиреозом, уменьшение частоты обращаемости по поводу заболевания и его осложнений в ближайшем году. Первичной переменной интереса клинического исследования являлся интегральный показатель, отражающий степень выраженности нейроиммуноэндокринных расстройств у пациентов с гипотиреозом и его динамика на фоне разработанного режима терапии.

Оценка эффективности и безопасности нового режима фармакотерапии СГ и МГ включала показатели следующих методов исследования: а) РИА гормонов гипоталамуса, щитовидной железы, коры надпочечников; б) активности систем ПОЛ-АОС в крови (МДА, СОД, ГР, глутатион); г) иммунограммы; д) ТЛМ

левотироксина; е) масс-спектрального анализа белков плазмы крови; ж) КЖ пациентов по общему и специальному опросникам; з) регистрации ПЭ; и) клинико-экономического анализа.

Включение пациента в клинические испытания

В клиническое исследование было включен 161 пациент, в том числе, с СГ (98 пациентов) и МГ (63 пациента), согласно клинико-anamnestической характеристике, представленной в таблице 1, и критериям включения/не включения в исследование. Сравнение средних значений основных показателей в исследовании проводилось с аналогичными показателями контрольной группы пациентов, которую составили здоровые лица (25 человек).

Таблица 1

Клинико-anamnestическая характеристика целевой популяции

Показатель	Целевая популяция (выборка)
Пол (мужчины/женщины)	49/112
Возраст, годы	42,4±1,3
Индекс массы тела, кг/м ²	27,1±1,1
гипотиреоз	
СГ, кол:	98
МГ, кол	63
Коронарный риск, кол.:	
небольшое увеличение/ умеренное увеличение/высокий риск	45/79/37
Степень иммунной недостаточности по А.М. Земскову:	
I степень/II степень/III степень	41/81/39

Подготовительный период клинического исследования.

В этот период проводилось снижение влияния предшествующего лечения (например, иммуностимуляторы, гиполлипидемические препараты). Все больные подписывали форму добровольного информированного согласия.

Технология рандомизации предполагала присвоение каждому испытуемому номера по случайному принципу с помощью специальной таблицы рандомизационных кодов и компьютерным формированием списка пациентов с последующим открытым наблюдением.

Дизайн исследования

Пациенты, прошедшие рандомизацию, исходно относились к пяти исследуемым группам в зависимости от клинического диагноза: I исследуемая группа (36 человек с СГ), не получавшая терапии; II исследуемая группа (32 человека с СГ), получавшая левотироксин в фиксированной дозе 50 мкг/сут течение 1 месяца, в конце 1 и 3 месяцев был проведен ТЛМ левотироксина с коррекцией дозы на 2-3 месяце исследования; III исследуемая группа (30 пациентов), получавшая левотироксин в дозе 50 мкг/сутки с коррекцией дозы с помощью ТЛМ в конце 1 и 3 месяцев исследования и глутоксим в дозе 10 мг/сут внутримышечно в 14:00 1 раз в 2 дня, количество инъекций № 10; IV исследуемая группа (31 па-

циент с МГ), получавшая левотироксин в фиксированной дозе 100 мкг/сут в течение 1 месяца, в конце 1 и 3 месяцев был проведен ТЛМ левотироксина с коррекцией дозы на 2-3 месяце исследования; V исследуемая группа (32 человека с МГ), получавшая левотироксин в дозе 100 мкг/сут с учетом данных ТЛМ в конце 1 и 3 месяцев исследования и глутоксим в дозе 10 мг/сут внутримышечно в 14:00 1 раз в 2 дня, количество инъекций №10. Промежуточный анализ значений показателей клинического исследования проведен на «21» день исследования, соответствующий завершению курса приема глутоксима. Окончательный анализ значений показателей исследования проведен в конце 3 месяца исследования.

Система комплексной оценки уровня адаптации пациентов на фоне разработанных режимов лечения СГ и МГ

Радиоиммунологический анализ содержания гормонов в крови

В исследовании использовались два основных варианта РИА содержания гормонов в сыворотке крови: собственно РИА (АКТГ, кортизол) и иммунорадиометрический (Т₃, Т₄, ТТГ). В работе были использованы стандартные наборы для РИА "Immunotech" (Чехия) и система «Амерлайт» (Великобритания). Для оценки свободного Т₄ использовалось определение индекса свободного тироксина (FT4I). Для вычисления FT4I значение общего Т₄ умножается на результат теста Т₃-uptake (или Т₄-uptake).

Определение иммунологических показателей крови

I этапом иммунологических исследований являлось выделение клеток из крови изокинетическим методом, основанным на разделении клеток в градиенте плотности, создаваемом смесью фиколл-уротраст (A. Boyum, 1968). Определение IgG, IgA и IgM выполнялось методом радиальной иммунодиффузии по Mancini с соавт. Для определения дифференцировочных антигенов Т-лимфоцитов применялись методы с использованием моноклональных антител. Флюоресценцию регистрировали на проточном цитофлюориметре "Coulter Epics" фирмы "Beckman Coulter" (США).

Кинетический метод контроля перекисного окисления липидов (ПОЛ).

Сущность метода состоит в окислении раствора липидов в присутствии источника свободных радикалов. В качестве показателя кислородной активности липидов используют скорость поглощения О₂. Для оценки активности ПОЛ определяли содержание малонового диальдегида (МДА) в реакции с тиобарбитуровой кислотой (ТБК) с образованием окрашенного комплекса, имеющего максимум светопоглощения при длине волны 535 нм. Определение активности супероксиддисмутазы (СОД) проводилось на основании способности фермента подавлять реакцию восстановления нитросинего тетразолия супероксидным анион радикалом, генерированным *in vitro* в системе ксантин: ксантиноксидаза.

ТЛМ левотироксина

Проводилось исследование концентрации левотироксина в сыворотке крови с помощью ВЭЖХ/МС-анализа (SURVEYOR LC/SURVEYOR MSQ фирмы

«Thermo Finnigan», США). В программе ADAPT II рассчитывались индивидуальные значения оптимальных моментов последующих измерений концентрации левотироксина в крови и популяции. Основные фармакокинетические показатели рассчитывались в программе по прикладной фармакокинетике («Kinetics», Thermo Finnigan, США).

Масс-спектрометрия плазмы крови

Выделение отдельных пептидов и белков плазмы крови при гипотиреозе проводилось на основе префракционирования плазмы крови с использованием метода IEF с помощью MicroRotofor Liquid-Phase IEF Cell (BioRad, Франция) и последующего 2DPAGE (BioRad, Франция). Следующими этапами являлись вырезание белковых зон из полиакриламидного геля, трипсинолиз, экстракция и получение масс-спектрограмм выделенных белков и пептидов на основе MALDI-TOF-масс-спектрометрии. Идентификация пептидов и белков плазмы крови в on-line режиме сопровождалась анализом их первичной и трехмерной структуры, выявлением полиморфизмов химического строения.

Оценка КЖ

Исследование предполагало применение стандартизированных опросников, апробированных и валидированных в клинических исследованиях: общий опросник MOS-SF-36 и специализированная анкета «КЖ больных с гипотиреозом по индексу Zulewski-Bulewich», состоящую из 14 пунктов и позволяющую оценивать функциональный статус больного, выраженность клинических симптомов гипотиреоза и степень возникающих в связи с этим ограничений в повседневной жизни у больных.

Регистрация ПЭ

В рамках Протокола термин ПЭ подразумевал все клинические проблемы, как связанные, так и не связанные с лечением, и все неожиданные или необычные случаи ухудшения его состояния по сравнению с исходным состоянием. В течение исследования проводилось выявление и анализ всего спектра ПЭ левотироксина и глутоксима на основании разработанного в секторе биомедицинских и лекарственных технологий Южного научного центра РАН программного продукта «Регистрация побочных реакций на лекарственные препараты». Степень тяжести вновь зарегистрированных и выявленных ПЭ оценивалась по шкале ПЭ, предложенной ВОЗ, проводилась оценка связи ПЭ с приемом препаратов.

Основные виды клинико-экономической оценки

Этапы клинико-экономического анализа выполнялись согласно требованиям Приказа № 163 МЗ РФ от 27 мая 2002 г. «Об утверждении ОСТ «Клинико-экономические исследования. Общие положения». Методы клинико-экономического исследования включали анализ общей стоимости болезни, анализ "затраты-эффективность", математическое моделирование.

Методы статистической обработки результатов

Первичную и вторичную статистическую обработку материала клинического

исследования проводили на персональном IBM совместимом компьютере с процессором Pentium IV с использованием пакета статистических программ для биомедицинских исследований "Statistica 6.0".

РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Динамика показателей гормонального профиля

Анализ исходных показателей гормонального профиля пациентов I группы и средних значений аналогичных показателей в контрольной группе продемонстрировал достоверное увеличение уровня АКТГ ($p < 0,01$), ТТГ ($p < 0,01$) и кортизола ($p < 0,001$) в крови пациентов с СГ. Анализ исходных показателей гормонального профиля пациентов II группы с СГ до проведения ТЛМ и средних значений аналогичных показателей в контрольной группе продемонстрировал достоверное увеличение уровня АКТГ ($p < 0,01$), ТТГ ($p < 0,01$) и кортизола ($p < 0,001$) в крови пациентов с СГ. Выявлены межгрупповые различия в показателях содержания стресс-адаптивных гормонов в крови пациентов с СГ I и II групп (до проведения ТЛМ): во II группе пациентов наблюдается статистически значимое уменьшение уровня АКТГ ($p < 0,01$), ТТГ ($p < 0,01$) и кортизола ($p < 0,001$) по сравнению со средними значениями аналогичных показателей в I группе пациентов. Сравнительный анализ средних значений показателей гормонального профиля пациентов IV группы с МГ со средними значениями аналогичных показателей в контрольной группе выявил достоверное увеличение содержания уровня АКТГ ($p < 0,001$), ТТГ ($p < 0,01$) при снижении уровня кортизола ($p < 0,01$) и концентрации T_4 ($p < 0,001$) и T_3 ($p < 0,01$) в крови. Сравнительный анализ показателей гормонального профиля крови пациентов во II группе с СГ (до проведения ТЛМ) и IV группе с МГ (до проведения ТЛМ) обнаружил более высокие значения уровня АКТГ ($p < 0,01$), ТТГ ($p < 0,01$) при существенном снижении уровня кортизола ($p < 0,001$), T_4 ($p < 0,01$) и T_3 ($p < 0,05$) в крови пациентов IV группы с МГ по сравнению с аналогичными показателями во II группе пациентов с СГ (до проведения ТЛМ). Результаты исследования содержания гормонов в крови пациентов с СГ и МГ до назначения и на фоне приема левотироксина с учетом ТЛМ, а также после назначения разработанного режима лечения представлены в таблицах 2, 3. Добавление глутоксима и оптимизация назначения левотироксина с помощью ТЛМ приводили к реставрации работы осей гипотиз-кора надпочечников и гипотиз-щитовидная железа.

Динамика показателей иммунологического статуса

В исходных показателях у пациентов с СГ и МГ выявлена 2 степень иммунной недостаточности и отмечались достоверное снижение количества Т-леток ($CD3^+$) ($p < 0,05$), статистически значимое уменьшение $CD16^+$ ($p < 0,01$), наличие недостаточности по количеству $CD4^+$ ($p < 0,01$), $CD8^+$ ($p < 0,01$), $CD25^+$ ($p < 0,001$), достоверное увеличение $CD72^+$ ($p < 0,05$), $CD95^+$ ($p < 0,01$), Ig M ($p < 0,01$), Ig G ($p < 0,05$), Ig A ($p < 0,01$), TNF- α ($p < 0,01$) и IL-1 ($p < 0,01$) по сравнению со средними значениями аналогичных показателей в контрольной группе пациентов.

Таблица 2

Динамика утренних показателей гормонального профиля крови пациентов с СГ на фоне различных режимов терапии

Параметры	I группа (n=36)		II группа Левотироксин (n=32)			III группа Левотироксин+глутоксим (n=30)	
	исходно ч/з 3 месяца M±SEM		исходно ч/з 1 месяц		ч/з 3 месяца	исходно ч/з 3 месяца TЛМ M±SEM	
АКТГ, нмоль/л	56,8±1,3	58,5±1,4 1)')3)	55,2±1,3	51,1±0,9 1)*)3)	40,1±1,5 1)***3)***2)*** 4)***5)***6)***	56,9±1,4	37,7±1,7 1)***3)***2)*** 4)***5)***6)**
Кортизол, нмоль/л	375,4±12,5	308,4±9,9 1)***3)**	358,4±10,3	329,6±9,6 1)*)3)	203,4±10,9 1)*)3)*)2)***4)*** 5)***6)***	365,3±19,4	256,1±12,5 1)***3)***2)*** 4)***5)***6)**
T_3 , нмоль/л	1,3±0,05	1,6±0,04 1)*)3)	1,4±0,03	1,3±0,07 1)')3)	1,4±0,07 1)')3)')2)')4)') 5)')6)	1,3±0,08	2,6±0,3 1)***3)***2)*** 4)***5)***6)**
T_4 , нмоль/л	95,6±3,1	79,3±2,9 1)*)3)	96,7±3,5	99,7±2,9 1)')3)	104,5±3,3 1)***3)***2)*** 4)***5)***6)***	95,5±4,3	107,7±4,6 1)*)3)*)2)*)4)*) 5)')6)
ТТГ, мЕД/л	5,5±0,3	5,9±0,2 1)*)3)	5,5±0,4	5,0±0,7 1)*)3)	4,8±0,3 1)***3)***2)***4)*** 5)***6)***	5,5±0,6	3,3±0,2 1)***3)***2)*** 4)***5)***6)**

Примечания: ' - недостоверные различия; * - $p < 0,05$; ** - $p < 0,01$; *** - $p < 0,001$

- 1) вероятность по t-критерию Стьюдента между группами пациентов до лечения/I группа; до лечения/II группа; до лечения/III группа;
- 2) вероятность по t-критерию Стьюдента между группами пациентов I/II; II/III;
- 3) вероятность по U-критерию Уитни между группами пациентов до лечения/I группа; до лечения/II группа; до лечения/III группа;
- 4) вероятность по U-критерию Уитни между группами пациентов I/II; II/III;
- 5) вероятность по t-критерию Стьюдента между пациентами II группы ч/з 1 и 3 месяца лечения /з 1 и 3 месяца лечения;
- 6) вероятность по U-критерию Уитни между пациентами II группы ч/з 1 и 3 месяца лечения/з 1 и 3 месяца лечения.

Терапия левотироксином в фиксированной дозе у II группы пациентов с СГ привела к различным по выраженности изменениям иммунологических параметров: достоверному увеличению показателей общих лейкоцитов ($p < 0,01$), лимфоцитов ($p < 0,01$), $CD3^+$ ($p < 0,05$), $CD4^+$ ($p < 0,05$), $CD8^+$ ($p < 0,01$), $CD16^+$ ($p < 0,01$), $CD25^+$ ($p < 0,001$), Ig A ($p < 0,05$) при значимом уменьшении $CD4^+/CD8^+$ ($p < 0,01$), $CD72^+$ ($p < 0,01$), $CD95^+$ ($p < 0,001$), Ig M ($p < 0,001$), Ig G ($p < 0,001$), TNF- α ($p < 0,001$) и IL-1 ($p < 0,001$); после коррекции дозы левотироксина с учетом ТЛМ в этой группе выявлена достоверная положительная динамика вышеперечисленных показателей. При добавлении глутоксима у пациентов с СГ наблюдалась нормализация всех иммунологических параметров: увеличение общих лейкоцитов ($p < 0,001$), лимфоцитов ($p < 0,01$), $CD3^+$ ($p < 0,001$), $CD4^+$ ($p < 0,001$), $CD8^+$ ($p < 0,001$), $CD25^+$ ($p < 0,001$), Ig A ($p < 0,01$), $CD16^+$ ($p < 0,001$) при снижении уровня Ig M ($p < 0,001$), Ig G ($p < 0,001$), $CD95^+$ ($p < 0,001$), $CD4^+/CD8^+$ ($p < 0,001$), $CD72^+$ ($p < 0,001$), концентрации TNF- α ($p < 0,001$) и IL-1 ($p < 0,001$).

Таблица 3
Динамика утренних показателей гормонального профиля крови пациентов с МГ на фоне различных режимов терапии

Параметры	IV группа Левотироксин (n=31)			V группа Левотироксин+ глютоксим (n=32)	
	исходно	через 1 месяц	через 3 месяца ТЛМ	исходно	через 3 месяца ТЛМ
	M±SEM			M±SEM	
АКТГ, нмоль/л	61,7± 1,7	49,6±1,1 1)*3)*	43,8±1,2 1)***3)***5)***6)***	59,8± 1,5	38,7±1,7 1)**3)**2)**4)**5)**6)**
Кортизол, нмоль/л	264,9± 14,2	178,3±11,6 1)**3)**	189,1±13,4 1)***3)***5)***6)***	275,1± 14,3	216,1±12,5 1)**3)**2)**4)**5)**6)**
T ₃ , нмоль/л	1,1± 0,04	1,2±0,02 1)3)*	1,4±0,05 1)***3)***5)**6)**	1,1± 0,06	2,4±0,03 1)***3)***2)*** 4)***5)**6)**
T ₄ , нмоль/л	87,6± 2,9	89,95±2,68 1)*3)*	90,9±3,2 1)***3)***5)**6)**	78,5± 3,2	99,7±2,6 1)***3)***2)** 4)**5)**6)**
ТТГ, мЕД/л	4,3± 0,5	4,0±0,7 1)*3)*	3,9±0,3 1)**3)**5)**6)**	5,3± 0,06	3,7±0,2 1)**3)**2)**4)**

Примечания:

- недостоверные различия; * - p<0,05; ** - p<0,01; *** - p<0,001

- 1) вероятность по t-критерию Стьюдента между группами пациентов до лечения/IV группа или до лечения/V группа;
- 2) вероятность по t-критерию Стьюдента между группами пациентов IV/V;
- 3) вероятность по U-критерию Уитни между группами пациентов до лечения/IV группа или до лечения/V группа;
- 4) вероятность по U-критерию Уитни между группами IV/V;
- 5) вероятность по t-критерию Стьюдента в IV группе пациентов через 1 и 3 месяца лечения и IV/V группе через 3 месяца лечения;
- 6) вероятность по U-критерию Уитни в IV группе пациентов через 1 и 3 месяца лечения и IV/V группе через 3 месяца лечения.

В группе пациентов с МГ после приема левотироксина в фиксированной дозе обнаружено значимое увеличение уровней лейкоцитов (p<0,001), лимфоцитов (p<0,01), CD4+ (p<0,05), CD8+ (p<0,05), CD16+ (p<0,05), CD25+ (p<0,001), Ig A (p<0,001), отмечалось значимое уменьшение индекса CD4+/CD8+ (p<0,001), CD72+ (p<0,05), CD95+ (p<0,01), Ig M (p<0,001), Ig G (p<0,001), TNF-α (p<0,001) и IL-1 (p<0,001). Проведение ТЛМ левотироксина выявил дальнейшее достоверное уменьшение индекса CD4+/CD8+ (p<0,001), CD95+ (p<0,001), Ig M (p<0,001), Ig G (p<0,001), TNF-α (p<0,001) и IL-1 (p<0,001), а также значимое увеличение показателей уровней лейкоцитов (p<0,001), лимфоцитов (p<0,001), CD4+ (p<0,01), CD8+ (p<0,001), CD16+ (p<0,01), CD25+ (p<0,001). В V группе пациентов обнаружено достоверное увеличение показателей общих лейкоцитов (p<0,001), лимфоцитов (p<0,001), CD4+ (p<0,001), CD8+ (p<0,001), CD16+ (p<0,05), CD25+ (p<0,001), CD72+ (p<0,001), Ig A (p<0,001) при значимом уменьшении CD4+/CD8+ (p<0,001), CD95+ (p<0,001), Ig M (p<0,001), Ig G

(p<0,001), IL-1 (p<0,001), TNF-α (p<0,001). Таким образом, эффективным в отношении устранения иммунологического дисбаланса у больных с СГ и МГ, представляется включение в СРТ лекарственных средств, в фармакологическом спектре действия которых присутствует иммуномодулирующий эффект.

Динамика параметров метаболического профиля

До проведения лечения в I и II группах пациентов с СГ обнаружено достоверное увеличение средних значений концентраций МДА (p<0,01), СОД (p<0,001), ГР (p<0,001) при значимом уменьшении содержания глутатиона (p<0,01) в крови по сравнению с аналогичными показателями в контрольной группе. В IV группе больных с МГ выявлено дальнейшее достоверное увеличение концентрации МДА (p<0,01), ГР (p<0,001) и значимое снижение содержания СОД (p<0,001) и глутатиона (p<0,001). В I группе пациентов через 3 месяца нами не отмечено достоверных изменений в средних значениях показателей содержания МДА и глутатиона, выявлено достоверное увеличение средних значений показателя СОД (p<0,05) и уменьшение средних значений показателя ГР (p<0,01); во II группе через месяц лечения зарегистрировано значимое увеличение СОД (p<0,001) при наличии тенденции к уменьшению МДА, ГР и увеличению глутатиона по сравнению с исходными средними значениями данных показателей; через 3 месяца отмечено достоверное увеличение концентрации СОД (p<0,001) и глутатиона (p<0,05) при значимом уменьшении содержания МДА (p<0,01) и ГР (p<0,05); при приеме левотироксина и глютоксима пациентами III группы обнаружено достоверное уменьшение МДА (p<0,001), ГР (p<0,001) и увеличение содержания глутатиона (p<0,01) и СОД (p<0,01) по сравнению с данными показателями до назначения нового режима терапии. Существенные различия обнаружены по всем показателям системы ПОЛ-АОС в I, II и III группах пациентов с СГ: выраженное уменьшение уровня МДА и ГР зарегистрировано через 3 месяца на фоне приема левотироксина и глутатиона в III группе пациентов с СГ по сравнению с I и II группами пациентов. Анализ показателей метаболического профиля IV группы на фоне СРТ показал достоверное уменьшение МДА (p<0,01) и увеличение СОД (p<0,01) при тенденции к уменьшению концентрации ГР и увеличению уровня глутатиона через месяц при приеме фиксированной дозы левотироксина; через 3 месяца после коррекции дозы левотироксина зарегистрировано достоверное увеличение СОД (p<0,01), глутатиона (p<0,01) и уменьшение МДА (p<0,01) и ГР (p<0,01); в V группе пациентов, принимавших терапию левотироксина под контролем ТЛМ с глютоксимом, обнаружено значимое уменьшение МДА (p<0,001), ГР (p<0,01) и увеличение глутатиона (p<0,001) и СОД (p<0,01) по отношению к средним значениям аналогичных исходных показателей в этой группе пациентов. Зарегистрированы межгрупповые различия по показателям ПОЛ-АОС в крови пациентов с МГ. Назначение глютоксима приводило к эффективной реставрации работы системы глутатион-ГР в исследуемых группах.

Терапевтический лекарственный мониторинг левотироксина

Анализ фармакокинетических параметров левотироксина у пациентов с СГ и

МГ до выполнения коррекции дозы на основе ТЛМ показал, что в группах пациентов с СГ достоверно снижены средние значения концентрации положительных ($p < 0,01$) и отрицательных ($p < 0,05$) ионов левотироксина, S_{max} левотироксина ($p < 0,01$), AUC_{0-24} ($p < 0,01$) при значимом увеличении T_{max} левотироксина ($p < 0,01$) в крови по сравнению со средними значениями аналогичных показателей в контрольной группе здоровых лиц (данные медицинской литературы). Сравнительный анализ исходных фармакокинетических (ФК) показателей левотироксина во II и III группах пациентов показал достоверное увеличение S_{max} левотироксина ($p < 0,01$), T_{max} ($p < 0,01$), а также показателя AUC_{0-24} ($p < 0,01$) в III группе пациентов. У пациентов с МГ наблюдается достоверное снижение средних значений исходных показателей S_{max} левотироксина ($p < 0,01$), AUC_{0-24} ($p < 0,001$) и значимое увеличение средних значений T_{max} левотироксина по сравнению со средними значениями аналогичных показателей в группе здоровых лиц и во II и III группах пациентов. Анализ ФК параметров левотироксина во II группе пациентов с СГ, полученных до проведения коррекции дозы препарата с учетом ТЛМ, показал через 3 месяца приема новой дозы левотироксина достоверное увеличение концентрации положительных ($p < 0,01$) и отрицательных ($p < 0,05$) ионов левотироксина, S_{max} ($p < 0,01$), AUC_{0-24} ($p < 0,01$) при значимом сокращении T_{max} левотироксина ($p < 0,05$) в крови по сравнению со средними значениями исходных показателей и средними значениями аналогичных показателей через месяц после проведения ТЛМ. В III группе пациентов с СГ через 3 месяца после коррекции дозы с учетом ТЛМ, выявлено значимое увеличение концентрации положительных ($p < 0,001$) и отрицательных ($p < 0,01$) ионов левотироксина, S_{max} ($p < 0,01$) в крови и AUC_{0-24} ($p < 0,001$) при значимом сокращении T_{max} ($p < 0,01$) в крови по сравнению со средними значениями исходных аналогичных показателей, средними значениями аналогичных показателей через месяц после проведения ТЛМ, а также средними значениями ФК показателей во II группе пациентов с СГ. В IV группе пациентов, принимавших левотироксин с коррекцией дозы под контролем ТЛМ, через месяц исследования зарегистрировано достоверное увеличение средних значений уровня концентрации положительных ($p < 0,01$), отрицательных ионов левотироксина ($p < 0,01$), S_{max} ($p < 0,001$), средних значений AUC_{0-24} ($p < 0,05$), значимое сокращение T_{max} ($p < 0,01$) левотироксина в крови; через 3 месяца исследования в данной группе пациентов наблюдалось дальнейшее достоверное увеличение концентрации положительных ($p < 0,001$), отрицательных ($p < 0,01$) ионов левотироксина, средних значений AUC_{0-24} ($p < 0,001$) и значимое уменьшение T_{max} ($p < 0,001$) левотироксина. При добавлении глютоксима во V группе больных с МГ через 1 и 3 месяца исследования наблюдалась нормализация всех ФК параметров препарата. Показано возможное ФК взаимодействие левотироксина и глютоксима в организме пациентов с СГ и МГ.

Динамика протеомного профиля плазмы крови

До назначения терапии у пациентов всех групп в различной интенсивности обнаружены специфические белки-маркеры, отвечающие за стадию патологического процесса при гипотиреозе: выявлено достоверное снижение уровня ин-

тенсивности группы белков, отвечающих за синтез тиреоидных гормонов [NIS ($p < 0,01$); белок, связывающий тиреоидный гормон внутри клетки ($p < 0,05$); Рах-8 ($p < 0,01$); ТПО ($p < 0,001$); ТГ ($p < 0,001$); тиреоидный транскрипционный фактор 1 (ТТФ 1) ($p < 0,01$)], трансформацию T_4 в активную форму T_3 в тканях [DIO I ($p < 0,001$), DIO II ($p < 0,01$), DIO III ($p < 0,01$)], белков-рецепторов к тиреоидным гормонам в органах-мишенях [рецептор к тиреоидному гормону, тип α ($p < 0,01$)]; обнаружено значимое увеличение интенсивности белка-рецептора к ТТГ ($p < 0,001$), транспортного белка плазмы крови для тиреоидных гормонов - ТСГ ($p < 0,001$); отмечены достоверное снижение интенсивности белка, участвующего в синтезе T_4 и T_3 - гипотетический белок, активирующий MAP-киназу ($p < 0,05$), подкласса белков-рецепторов к тиреоидным гормонам - рецептор к тиреоидному гормону, подтип $\beta 1$ ($p < 0,05$), а также значимое повышение интенсивности белка, отвечающего за биотрансформацию T_4 и T_3 в печени - УДФ-глюкуронозил-трансфераза ($p < 0,05$) по сравнению со средними значениями аналогичных показателей в контрольной группе.

В I группе пациентов через 3 месяца исследования выявлено достоверное повышение интенсивности рецепторов к ТТГ ($p < 0,05$), ТСГ ($p < 0,05$) по сравнению с исходными значениями аналогичных показателей. Во II группе пациентов через месяц лечения левотироксином в фиксированной дозе обнаружены значимое увеличение интенсивности показателей NIS ($p < 0,01$), ТТФ 1 ($p < 0,001$), белка, связывающего тиреоидный гормон внутри клетки ($p < 0,01$), Рах-8 ($p < 0,01$), ТПО ($p < 0,001$), ТГ ($p < 0,001$), DIO I ($p < 0,05$), DIO II ($p < 0,05$), DIO III ($p < 0,01$), рецептора к тиреоидному гормону, тип α ($p < 0,01$); достоверное уменьшение интенсивности рецептора к ТТГ ($p < 0,05$), ТСГ ($p < 0,05$) и повышение интенсивности рецептора к тиреоидному гормону, подтип $\beta 1$ ($p < 0,05$) по сравнению со средними значениями показателей в данной группе пациентов до лечения. Через 3 месяца терапии показаны достоверное увеличение интенсивности NIS ($p < 0,01$), ТТФ 1 ($p < 0,01$), белка, связывающего тиреоидный гормон внутри клетки ($p < 0,01$), Рах-8 ($p < 0,01$), ТПО ($p < 0,01$), ТГ ($p < 0,01$), DIO I ($p < 0,001$), DIO II ($p < 0,01$), DIO III ($p < 0,01$), рецептора к тиреоидному гормону, тип α ($p < 0,01$) и подтип $\beta 1$ ($p < 0,01$), УДФ-глюкуронозил-трансферазы ($p < 0,01$), гипотетического белка, активирующего MAP-киназу ($p < 0,01$) при достоверном уменьшении интенсивности рецепторов к ТТГ ($p < 0,01$), ТСГ ($p < 0,01$) по сравнению со средними значениями показателей исходно и через месяц лечения. В III группе пациентов через 3 месяца терапии левотироксином и глютоксимом под контролем ТЛМ выявлены значимое увеличение показателя интенсивности для NIS ($p < 0,001$), ТТФ 1 ($p < 0,001$), белка, связывающего тиреоидный гормон внутри клетки ($p < 0,001$), Рах-8 ($p < 0,001$), ТПО ($p < 0,001$), ТГ ($p < 0,001$), DIO I ($p < 0,001$), DIO II ($p < 0,01$), DIO III ($p < 0,001$), рецептора к тиреоидному гормону, тип α ($p < 0,01$) и подтип $\beta 1$ ($p < 0,01$), УДФ-глюкуронозил-трансферазы ($p < 0,001$), гипотетического белка, активирующего MAP-киназу ($p < 0,01$), при достоверном уменьшении интенсивности рецепторов к ТТГ ($p < 0,001$), ТСГ ($p < 0,001$) по сравнению с исходными средними значениями показателей и показателями II группы пациентов. В IV группе пациентов через месяц лечения левотироксином

в фиксированной дозе без ТЛМ выявлены достоверное увеличение интенсивности показателей NIS ($p<0,001$), ТТФ 1 ($p<0,01$), белка, связывающего тиреоидный гормон внутри клетки ($p<0,01$), Рах-8 ($p<0,01$), ТПО ($p<0,01$), ТГ ($p<0,01$), DIO I ($p<0,01$), DIO II ($p<0,01$), DIO III ($p<0,001$), рецептора к тиреоидному гормону, тип α ($p<0,001$) и подтип $\beta 1$ ($p<0,001$), гипотетического белка, активирующего MAP-киназу ($p<0,01$), при достоверном уменьшении показателя интенсивности рецепторов к ТТГ ($p<0,01$), ТСГ ($p<0,001$) по сравнению с исходными средними значениями в данной группе пациентов. Через 3 месяца терапии показаны увеличение интенсивности NIS ($p<0,01$), ТТФ 1 ($p<0,001$), белка, связывающего тиреоидный гормон внутри клетки ($p<0,001$), Рах-8 ($p<0,001$), ТПО ($p<0,001$), ТГ ($p<0,001$), DIO I ($p<0,001$), DIO II ($p<0,01$), DIO III ($p<0,001$), рецептора к тиреоидному гормону тип α ($p<0,001$) и подтип $\beta 1$ ($p<0,001$), гипотетического белка, активирующего MAP-киназу ($p<0,001$) при достоверном уменьшении показателя интенсивности рецепторов к ТТГ ($p<0,01$), ТСГ ($p<0,001$), УДФ-глюкуронозил-трансферазы ($p<0,05$) по сравнению со средними значениями соответствующих показателей исходно и через месяц терапии.

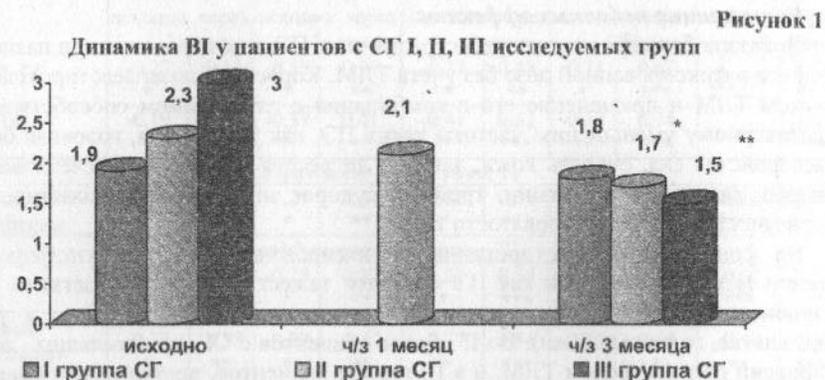
В V группе через 3 месяца терапии выявлены достоверное увеличение показателя интенсивности для NIS ($p<0,01$), ТТФ 1 ($p<0,001$), белка, связывающего тиреоидный гормон внутри клетки ($p<0,001$), Рах-8 ($p<0,01$), ТПО ($p<0,001$), ТГ ($p<0,001$), DIO I ($p<0,001$), DIO II ($p<0,01$), DIO III ($p<0,001$), рецептора к тиреоидному гормону, тип α ($p<0,001$) и подтип $\beta 1$ ($p<0,01$), гипотетического белка, активирующего MAP-киназу ($p<0,001$), УДФ-глюкуронозил-трансферазы ($p<0,01$) при значимом уменьшении интенсивности рецепторов к ТТГ ($p<0,001$), ТСГ ($p<0,001$) по сравнению с исходными значениями этих показателей и аналогичными показателями в группе пациентов с МГ, не получавших глутоксим.

Динамика показателей КЖ

Результаты исследования КЖ лиц контрольной группы и больных с СГ и МГ на фоне СРТ и нового режима терапии по общему опроснику MOS-SF-36 продемонстрировали наиболее низкие средние значения по показателям шкал физического функционирования, ролевого физического функционирования, общего здоровья и жизнеспособности, ролевого эмоционального функционирования, психологического здоровья и социального функционирования в группах пациентов с МГ по сравнению со средними значениями аналогичных показателей в группах пациентов с СГ. Показатели шкал оценки физического функционирования продемонстрировали более низкие значения во всех группах пациентов до назначения лечения, чем показатели шкал оценки психологического компонента КЖ. При назначении левотироксина пациентам II и IV групп с СГ и МГ без применения ТЛМ через месяц лечения средние значения показателей вышеперечисленных шкал ($p<0,05$) достоверно улучшились: наиболее выраженное изменение отмечено в группе пациентов с СГ. Коррекция дозы левотироксина с учетом ТЛМ у пациентов с СГ и МГ II и IV групп, а также в группах пациентов с СГ и МГ, принимавших левотироксин в комбинации с глутоксимом с учетом ТЛМ левотироксина, сопровождалось достоверным улучшением параметров шкал как эмоционального ($p<0,01$), так и физического ($p<0,01$) функ-

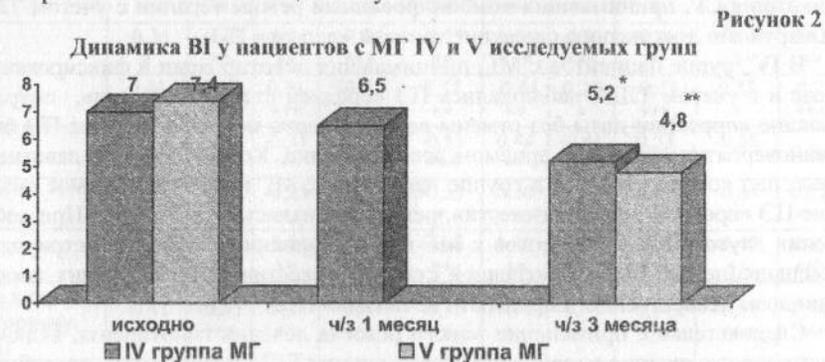
ционирования по сравнению со средними значениями аналогичных показателей в контрольной группе. Выраженное улучшение средних значений показателей шкал опросника MOS SF-36 наблюдалось у больных с СГ, принимавших левотироксин с учетом ТЛМ с глутоксимом.

Сравнительный анализ средних значений индекса ВІ у пациентов с СГ и МГ на фоне СРТ и нового режима лечения представлены на рисунках 1, 2.



Примечания: - недостоверные различия; * - $p<0,05$; ** - $p<0,01$; *** - $p<0,001$; сравнение в группах I группа до лечения/I группа через 3 месяца лечения; II группа до лечения/II группа через 1 месяц лечения /II группа через 3 месяца лечения; III группа до лечения/III группа через 3 месяца лечения.

Наиболее существенная регрессия средних значений показателя ВІ зарегистрирована в группе пациентов с СГ и МГ, в которой назначался левотироксин под контролем ТЛМ в комбинации с глутоксимом.



Примечания: - недостоверные различия; * - $p<0,05$; ** - $p<0,01$; *** - $p<0,001$; сравнение в группах IV группа до лечения/IV группа через 1 месяц лечения /IV группа через 3 месяца лечения; V группа до лечения/V группа через 3 месяца лечения.

Показатели корреляционного анализа

Корреляционный анализ, проведенный по параметрам гормонального, иммунного и протеомного профилей крови у пациентов с СГ и МГ на фоне СРТ и нового режима лечения, продемонстрировал наличие ряда закономерностей, отражающих геномные и протеомные звенья в механизме реализации фармакологических эффектов левотироксина и глутоксима (таблица 4).

Регистрация побочных эффектов

Показана большая частота регистрации всех ПЭ левотироксина при назначении его в фиксированной дозе без учета ТЛМ. Коррекция дозы левотироксина с учетом ТЛМ и применение его в комбинации с глутоксимом способствовала достоверному уменьшению частоты таких ПЭ, как тахикардия, головная боль, расстройства сна, сухость кожи, запор и депрессия при полном исчезновении диареи, тахикардии, аритмии, тремора, судорог мышц нижних конечностей, нервозности, рвоты, одутловатости кожи.

На фоне приема левотироксина в фиксированной дозе зарегистрирован спектр ПЭ, определяемый как ПЭ «средней тяжести», а также «легкие» ПЭ, равновероятно связанные с применением препарата (тахикардия, боль в грудной клетке, головные боли). Во II группе пациентов с СГ, принимавших левотироксин под контролем ТЛМ, и в III группе пациентов, принимавших левотироксин с учетом показателей ТЛМ в комбинации с глутоксимом, наблюдалось значимое уменьшение ПЭ «средней тяжести», которые не потребовали отмены левотироксина и были устранены коррекцией дозы препарата, либо проходили самостоятельно. «Легкие» ПЭ во II группе, вероятно, были связаны с применением левотироксина, однако нельзя исключить присутствие другого фактора, связанного с развитием эффекта (головная боль, тахикардия). В III группе пациентов с СГ, принимавших комбинированный режим терапии с учетом ТЛМ, обнаружено достоверное снижение частоты «легких» ПЭ.

В IV группе пациентов с МГ, принимавших левотироксин в фиксированной дозе и с учетом ТЛМ, наблюдались ПЭ «средней степени тяжести», потребовавшие коррекции дозы без отмены левотироксина и легкие ПЭ. Все ПЭ были равновероятно связаны с приемом левотироксина. Коррекция дозы левотироксина под контролем ТЛМ в группе пациентов с МГ показала значимое снижение ПЭ «средней степени тяжести», регистрировались «легкие» ПЭ. При добавлении глутоксима у пациентов с МГ при выполнении ТЛМ зарегистрировано уменьшение частоты ПЭ «средней степени тяжести», потребовавших коррекции дозы лекарственного препарата и «легких» ПЭ.

Следовательно, применение нового режима лечения гипотиреоза, включавшего левотироксин с коррекцией дозы с учетом ТЛМ и глутоксим, способствовало уменьшению частоты и тяжести ПЭ левотироксина, что повышает эффективность лечения больных и свидетельствует о наличии индивидуальной чувствительности организма пациента с СГ и МГ к левотироксину.

Таблица 4

Динамика корреляционных зависимостей между гормональными, метаболическими и протеомными показателями на фоне различных режимов лечения гипотиреоза

Показатель	г.коэффициент корреляции, кортизол									
	Группы исследования									
	I группа СГ (n=36)		II группа СГ (n=32)		III группа СГ (n=30)		IV группа МГ (n=31)		V группа МГ (n=32)	
	исходно	через 3 месяца	исходно	через 3 месяца	исходно	через 3 месяца	исходно	через 3 месяца	исходно	через 3 месяца
СОД, усл. ед.	-0,27*	-0,41**	-0,25*	0,37**	-0,37**	0,48**	-0,31*	0,67***	0,38**	0,74***
ГР, мкМ/мг	-0,19*	0,24*	-0,37**	0,41**	-0,41**	0,62**	-0,37**	0,74***	0,41**	0,81***
г.коэффициент корреляции, T ₄										
УДФ-глюкуронозилтрансфераза	-0,35**	-0,41**	-0,29*	0,47**	-0,32*	0,51***	-0,57***	-0,21*	-0,62***	-0,79***
г.коэффициент корреляции, T ₃										
NIS	-0,31*	-0,48**	-0,28*	0,37**	-0,21*	0,54***	-0,44**	0,31*	-0,52***	0,59***
Тиреоидный транскрипционный фактор 1	-0,33*	-0,38**	-0,29*	-0,47**	-0,37**	0,54***	-0,22*	0,64***	-0,39**	0,49***
Белок, связывающий тиреоидный гормон внутри клетки	-0,28*	-0,47**	-0,34*	-0,39**	-0,31*	0,51***	-0,64***	0,35**	-0,57***	0,44**
Рах-8	-0,31*	-0,44**	-0,25*	-0,39**	-0,44**	0,37**	-0,52***	0,39**	-0,64***	0,45**
ТПО	-0,25*	-0,37**	-0,33*	-0,38**	-0,35**	0,64***	-0,47**	0,32*	-0,51***	0,47**
ТГ	-0,34*	-0,41**	-0,41**	-0,54***	-0,39**	0,66***	-0,52***	0,34*	-0,54***	0,42**
ТСГ	0,44**	0,48**	0,51***	-0,21*	0,37**	-0,44**	0,25*	-0,71***	0,33*	-0,72***
DIO I	-0,29*	-0,41**	-0,31*	-0,51***	-0,53***	0,44**	-0,61***	0,53***	-0,68**	0,59**
DIO II	-0,34*	-0,44**	-0,25*	-0,57**	-0,33*	0,30*	-0,54***	0,49**	-0,64***	0,71***
DIO III	-0,29*	-0,47**	-0,44**	-0,57***	-0,38**	0,49**	-0,44**	0,55***	-0,47**	0,61***
Рецептор к тиреоидному гормону, подтип β1	-0,41**	-0,55***	-0,38**	-0,63***	-0,35**	0,44**	-0,49**	0,67***	-0,57***	0,74***
Рецептор к тиреоидному гормону, тип α	-0,29*	-0,53***	-0,37**	-0,44**	-0,41**	0,52**	-0,48**	0,61***	-0,45**	0,71***
Белок, активирующий MAP-киназу	-0,44**	-0,57***	-0,31*	-0,38**	-0,51***	0,44**	-0,57***	0,66***	-0,64***	0,7***

Примечания: - недостоверные различия; * - p<0,05; ** - p<0,01; *** - p<0,001

Результаты сравнительного клинко-экономического анализа нового режима терапии СГ и МГ и «типичной» практики ведения пациентов

При расчете стоимости каждого режима терапии учитывались все затраты за период исследования: прямые материальные затраты на оказание медицинской помощи пациентам с СГ и МГ, включающие стоимость медицинских услуг, стоимость лекарственных препаратов, стоимость лабораторных и инструментальных методов исследования, которые оказались наименьшими в группе пациентов с СГ, не принимавших левотироксин, и в группах больных с СГ и МГ, получавших терапию левотироксином с коррекцией дозы на основе ТЛМ.

Анализ прямых затрат на оказание медицинской помощи больным с СГ и МГ свидетельствует о повышении расходов на лекарственные препараты, процедуру ТЛМ и анализ протеомного профиля в случае назначения нового режима лечения, включавшего левотироксин и глютоксим с учетом ТЛМ.

В данных группах продемонстрирована экономия по таким статьям расходов, как достижение большим процентом лиц компенсации гипотиреоза, улучшение КЖ пациентов, уменьшение частоты эпизодов прогрессирования гипотиреоза и сокращение дополнительных затрат на профилактику прогрессирования гипотиреоза и ликвидацию ПЭ левотироксина.

Интегральный показатель степени адаптации (таблица 5), продемонстрировал, что количество пациентов с СГ и МГ, принимавших левотироксин и его комбинацию с глютоксимом и достигших целевой переменной, превышало количество больных, достигших целевой переменной на СРТ.

При проведении расчета коэффициентов СЕА оказалось, что наименее затратно-эффективным является применение комбинированного режима терапии у пациентов с СГ и МГ, предусматривающего прием левотироксина с учетом ТЛМ и глютоксима.

Комплексная оценка эффективности терапии продемонстрировала, что у пациентов, получавших комбинированный режим лечения, отмечался более высокий СЕА ($p < 0,01$), чем у больных, получавших СРТ.

Таким образом, высокая эффективность и безопасность нового режима лечения СГ и МГ, предусматривающего применение левотироксина с учетом ТЛМ и глютоксима, связаны, вероятно, с влиянием этих препаратов на нейроиммуноэндокринные сетевые взаимодействия в организме пациентов, в основе работы которых лежит активность сигнал-передающих систем и транскрипционных факторов в клетках органов-мишеней и тиреоцитах.

Изменение степени адаптации в контрольной и исследуемых группах больных с СГ и МГ

Режим фармакотерапии	Степень адаптации, А (усл. ед.) M±SEM
КГ (n=25)	51,4±2,5
Субклинический гипотиреоз	
I исследуемая группа (n=36)	
исходно	41,6±1,2 1)***3)***
через 3 месяца	38,4±1,1 1)***2)*3)***4)*
II исследуемая группа (n=32)	
исходно	37,9±1,6 1)***3)***
через 3 месяца с учетом ТЛМ	45,7±2,2 1)***2)***3)***4)***
III исследуемая группа (n=30)	
исходно	39,3±1,8 1)***3)***
через 3 месяца с учетом ТЛМ	47,7±2,5 1)***2)***3)***4)***
Манифестный гипотиреоз	
IV исследуемая группа (n=31)	
исходно	10,3±0,8 1)***3)***
через 3 месяца с учетом ТЛМ	32,4±1,9 1)***2)***3)***4)***
V исследуемая группа (n=32)	
исходно	11,8±0,7 1)***3)***
через 3 месяца с учетом ТЛМ	41,4±2,5 1)***2)***3)***4)***

Примечания: 1 - недостоверные различия; * - $p < 0,05$; ** - $p < 0,01$; *** - $p < 0,001$

ВЫВОДЫ

1. Добавление глютоксима в режим лечения гипотиреоза и оптимизация назначения пациентам левотироксина с помощью ТЛМ приводит к достоверному снижению концентрации АКТГ, ТТГ, кортизола, показателей системы ПОЛ, уровней $CD4^+/CD8^+$, $CD95^+$, Ig M, Ig G, IL-1, TNF- α при значимом увеличении содержания T_3 и T_4 в крови, активности АОС крови, уровней $CD16^+$, $CD25^+$, $CD72^+$, Ig A.
2. Новый режим лечения оказывает положительную динамику на качественный состав молекулярных маркеров прогрессирования гипотиреоза, предполагающий увеличение показателей интенсивности NIS, ТТФ 1, белка, связывающего тиреоидный гормон внутри клетки, Рах-8, ТПО, ТГ, DIO I, DIO II, DIO III, рецепторов к тиреоидному гормону, тип. α и подтип $\beta 1$, гипотетического белка, активирующего MAP-киназу, УДФ-глюкуронозил-трансферазы при статистически значимом уменьшении интенсивности рецепторов к ТТГ, ТСГ.
3. Комбинированный режим лечения гипотиреоза способствует достоверной трансформации отрицательной корреляционной зависимости между концентрацией T_3 в крови пациентов с СГ и МГ и уровнем интенсивности NIS.

ТТФ 1, белка, связывающего тиреоидный гормон внутри клетки, Рах-8, ТПО, ТГ, ТСГ, DIO I, II, III, рецептора к тиреоидному гормону, подтип $\beta 1$ и тип α , гипотетического белка, активирующего MAP-киназу, в положительную корреляционную зависимость.

4. Чувствительными и специфичными параметрами для оценки эффективности нового режима лечения гипотиреоза являются показатели концентрации T_3 и интенсивности биомаркеров гипотиреоза в протеомном профиле крови пациентов.

5. Проведение ТЛМ левотироксина в комбинации с глутоксимом у пациентов с СГ и МГ приводит к статистически значимому увеличению максимальной концентрации левотироксина в крови, средних значений площади под кривой «концентрация-время», уменьшению времени достижения его максимальной концентрации.

6. Применение левотироксина с учетом ТЛМ и глутоксима позволяет статистически значимо уменьшить средние значения В1 и достоверно улучшить значения показателей шкал физического и эмоционального функционирования опросника MOS-SF-36 в группах пациентов с СГ и МГ.

7. Применение биоаналитических методов для оценки эффективности и безопасности разработанного режима фармакотерапии СГ и МГ, которая включает анализ динамики протеомного профиля плазмы крови, ТЛМ и КЖ пациентов, показывает доминирующую экономическую альтернативу.

Практические рекомендации

1. Разработка и внедрение новых режимов лечения гипотиреоза в клиническую практику должны сопровождаться новой системой оценки их эффективности и безопасности на основе инновационных биомолекулярных методов исследования, предполагающей анализ протеомного профиля плазмы крови, показателей ТЛМ и опросников для определения уровня КЖ пациента.

2. В клинической практике может быть рекомендован ТЛМ левотироксина в соответствии со следующей схемой его проведения у пациентов с СГ и МГ:

Моменты взятия проб крови для ТЛМ левотироксина	СГ	МГ
1 точка	Перед дозой	Перед дозой
2 (ч, после дозы)	4,5	6
3 (ч, после дозы)	4,5	5

3. Целесообразным является применение фармакологической коррекции нейроиммуноэндокринных сетевых взаимодействий у больных с СГ и МГ аутоиммунного генеза модификатором биологического ответа - глутоксимом, что существенно отражается на скорости прогрессирования гипотиреоза у данного контингента больных.

4. В условиях повседневной клинической практики может быть рекомендо-

ван интегральный коэффициент адаптации организма пациентов с СГ и МГ, который рассчитывается в уравнении регрессии применительно к основному патологическому процессу:

$A = \Phi K + (ИП + ГП + ИКЖ + ПП)$, где А - степень адаптации (полная при значениях от 45 до 55 усл.ед., неполная - при значениях от 2 усл. ед. до 45 усл. ед., дизадаптация при значениях 2 усл. ед. и менее); ТТГ/ T_4 - соотношение концентрации ТТГ и T_4 ; ИП - интегральный показатель функционирования иммунной системы, включающий $CD4^+/CD8^+ + CD25^+$; ИКЖ - индекс качества жизни (в баллах) для пациентов с СГ и МГ (шкала «КЖ больных с гипотиреозом по индексу Zulewski-Bulewich»); ПП-протеомный профиль DIO III+ рецептор к тиреоидному гормону, подтип $\beta 1 +$ рецептор к тиреоидному гормону, тип α .

5. В клинике рекомендуется оценивать динамику показателей КЖ до назначения и на фоне проводимой терапии гипотиреоза с помощью общего опросника MOS-SF-36, специализированной шкалы «КЖ больных с гипотиреозом по индексу Zulewski-Bulewich».

6. Разработка и внедрение в клиническую практику новых режимов лечения гипотиреоза должны сопровождаться предварительным клинико-экономическим анализом с применением основных и вспомогательных методов анализа диагностических и лечебных технологий.

Публикации по теме диссертации

1. Анализ эффективности применения препарата Глутоксим при лечении хламидиоза // Анн. докл. 55-й Итоговой научн. конф. студентов, молодых ученых и специалистов, г. Ростов-на-Дону, 2001. - С. 135.

2. К вопросу об эффективности и безопасности применения Ронколейкина у пациентов с аутоиммунным тиреоидитом /И.В. Сарвилина// Научн.-практ. журнал «Цитокины и воспаление», г. Санкт-Петербург, 2002 г. - т. 1.- № 2.- С. 105.

3. К вопросу об эффективности и безопасности применения имунофана у пациентов с аутоиммунным тиреоидитом / И.В. Сарвилина // Анн. докл. 56-й Итоговой научн. конф. студентов, молодых ученых и специалистов, г. Ростов-на-Дону, 2002. - С. 116.

4. О механизмах эффективности нового пептидного соединения Бестим у пациентов с аутоиммунным тиреоидитом / И.В. Сарвилина, Ю.С. Макляков // Анн. докл. II съезда Российского Научного Общества фармакологов «Фундаментальные проблемы фармакологии», г. Москва, часть II, 2003. - С. 321.

5. Терапевтический лекарственный мониторинг у пациенток с гипотиреозом и климактерическим синдромом / И.В. Сарвилина, Ю.С. Макляков// Научн.-практ. конф. с международным участием «30 лет клинической фармакологии в России: достижения и перспективы 1974-2004», г. Москва, 2004. - С. 301-302.

6. Клинико-экономический анализ типичной практики ведения больных с аутоиммунным тиреоидитом в фазе эутиреоза/ Ю.С. Макляков, И.В. Сарвилина // Анн. докл. IX Российского национального конгресса «Человек и лекарство», г.Москва, 2004. - С. 122.

7. Субклинический гипотиреоз в практике семейного врача: от эпидемиологии к доказательной фармакотерапии / Ю.С. Макляков, И.В. Сарвилина // Науч.-практ. журнал «Российский семейный врач», г. Санкт-Петербург, 2005. – Т. 9. – № 3. – С. 34-42.

8. Перспективы применения ВЭЖХ/Масс-спектрометрии в клинической фармакологии / И.В. Сарвилина, Ю.В. Горшкова // Анн. докл. III Международной конф. по новым технологиям и приложениям современных физико-химических методов, г. Ростов-на-Дону, 2005. – С. 242-243.

9. Лекарственная профилактика нейроиммунноэндокринных расстройств у подростков с артериальной гипертензией / Ю.Ю. Чесникова, Г.Ю. Нагорная, Е.А. Карташова, О.И. Елисеева, И.В. Сарвилина, Ю.В. Горшкова, Д.В. Зимаков // Журнал «Вестник Южного научного центра РАН», г. Москва, 2005. – Т. 1. – № 4. – 72-80.

10. Качество жизни пациентов с субклиническим и манифестным гипотиреозом на фоне терапии левотироксином / И.В. Сарвилина, М.А. Додохова, О.И. Елисеева // Анн. докл. научн.-практ. конф. "Человек и его здоровье", г. Санкт-Петербург, 2006. – С.27.

11. О целесообразности проведения терапевтического лекарственного мониторинга у пациентов с субклиническим и манифестным гипотиреозом / О.И. Елисеева, Д.В. Зимаков, И.В. Сарвилина // Научн. - практ. журнал «Проблемы стандартизации в здравоохранении», г. Москва, 2005. – № 11.-С. 147-148.

12. Оптимизация терапии левотироксином на основе комплексной оценки гормонального и иммунного статуса пациентов с субклиническим и манифестным гипотиреозом / Сарвилина И. В., Горшкова Ю. В. // Научн. - практ. журнал «Медицинская иммунология», г. Санкт-Петербург, 2006. – Т. 8. – № 5-6. – С. 697-706.

13. О комплексной оценке эффективности и безопасности левотироксина у пациентов с манифестным гипотиреозом // Научн. - практ. журнал «Биомедицина», г. Москва, 2006. – № 3. – С. 134-136.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АИТ	- аутоиммунный тиреоидит		риламидном геле
АКТГ	- адренокортикотропный гормон	Da	- дальтон
АОС	- антиоксидантная система	DHB	- матрица 2,5-дигидроксibenзойная кислота
ГР	- глутатион-редуктаза		
ЖКТ	- желудочно-кишечный тракт		
ИБС	- ишемическая болезнь сердца	DIO	- дейодиназа
ИФА	- иммуноферментный анализ	HCCA	- матрица цианогидроксицианиминовая кислота
КГ	- контрольная группа		
КЖ	- качество жизни	H ₃ PO ₄	- фосфорная кислота
МГ	- манифестный гипотиреоз	Г	- отрицательный ион йода
МДА	- малоновый диальдегид	Г ⁺	- положительный ион йода
ПОЛ	- перекисное окисление липидов	IEF	- изоэлектрофокусировка
ПЭ	- побочный эффект	Ig	- иммуноглобулин
РАН	- Российская академия наук	IL	- интерлейкин
РИА	- радиоиммунологический анализ	K+	- калий
		kDa	- килодальтон
		M	- моль
СТ	- субклинический гипотиреоз		
СОД	- супероксиддисмутаза	MALDI-TOF	- время-пролетная масс-спектрометрия с ионизацией лазерной десорбцией при содействии матрицы
СРО	- свободно-радикальное окисление		
СРТ	- стандартный режим терапии	MAP	- митоген-активированная протеинкиназа
Т ₃	- трийодтиронин		
Т ₄	- тироксин		
ТБК	- тиобарбитуровая кислота	Mg	- молекулярная масса
ТГ	- тироглобулин	n	- количество пациентов
ТЛМ	- терапевтический лекарственный мониторинг	Na ⁺	- натрий
		NaOH	- гидроксид натрия
ТПО	- тиреопероксидаза	NIS	- натрий-йодный симпортер
ТСГ	- тироксин-связывающий глобулин		
ТТГ	- тиреотропный гормон	NH ₄ HCO ₃	- гидрокарбонат аммония
ТТФ 1	- тиреоидный транскрипционный фактор 1	PAX-8	- парный транскрипционный фактор 8
УЗИ	- ультразвуковое исследование	pI	- изоэлектрическая точка
		pH	- значение среды
усл. ед.	- условные единицы	SDS-PAGE	- электрофорез с додецилсульфатом натрия
ФК/ФД	- фармакокинетическая /фармакодинамическая	SEM	- стандартная ошибка среднего значения
AUC ₀₋₂₄	- площадь под кривой «концентрация препарата-время»	Tmax	- время достижения максимальной концентрации
BI	- индекс Zulewski-Bulewich	TFA	- трифторуксусная кислота
Ca ⁺⁺	- кальций	ta	
Cmax	- максимальная концентрация препарата	TNFα	- фактор некроза опухоли альфа
CD	- кластер дифференцировки		
2DPAGE	- двумерный электрофорез в полиак-	O ₂	- кислород

Шин Евгения Федоровна

**БИМОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕТОДЫ РАЗРАБОТКИ
НОВОГО РЕЖИМА ЛЕЧЕНИЯ СУБКЛИНИЧЕСКОГО
И МАНИФЕСТНОГО ГИПОТИРЕОЗА**

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Бумага офс. Усл.-печ. л 1,0 Заказ № 245
Тираж 100 экз.

Отпечатано в типографии
ООО «Аркол»