

Є.І. Легач

Інститут проблем
кріобіології і кріомедицини
НАН України, Харків

Ефективність комбінованої трансплантації щитоподібної залози та сім'яників за умов експериментального гіпотирозу

The efficacy of thyroid gland
and testes combined transplantation
in experimental hypothyrosis

Цель работы: Изучение влияния комбинированной трансплантации органотипических культур щитовидной железы (ЩЖ) и семенников (С) на уровень тироксина, а также на показатели углеводного, белкового и липидного обменов у крыс с экспериментальным послеоперационным гипотиреозом.

Материалы и методы: Исследования были проведены на 70 крысах-самцах массой 150–200 г, подвергшихся тиреоидэктомии и последующей трансплантации органотипической культуры ЩЖ отдельно или в комбинации с органотипической культурой С. Трансплантацию выполняли под капсулу левой почки. Для оценки функции трансплантата на 120-е сутки почку удаляли. На 127-е сутки после трансплантации животных декаптивировали и в сыворотке крови измеряли уровень тироксина, холестерина, альбумина и глюкозы после углеводной нагрузки.

Результаты: Показано повышение содержания тироксина до 70 % от контрольного уровня в плазме крови крыс с экспериментальным послеоперационным гипотиреозом на 120-е сутки после ксенотрансплантации органотипической культуры ЩЖ отдельно либо совместно с органотипической культурой С. Этот эффект не был обусловлен регенерацией функции собственной ЩЖ, что продемонстрировано при резком падении содержания тироксина после удаления почки, несущей трансплантат.

Выводы: Комбинированная трансплантация органотипической культуры ЩЖ с органотипической культурой С повышает уровень тироксина в крови крыс с послеоперационным гипотиреозом. Органотипическая культура С, трансплантированная совместно, не только осуществляет иммунологическую протекцию, но и способствует восстановлению функциональной активности органотипической культуры ЩЖ после криоконсервирования.

Ключевые слова: комбинированная трансплантация, щитовидная железа, клетки Сертоли, семенники.

Objective: To study the influence of thyroid gland (TG) and testicles (T) organotypic culture combined transplantation on thyroxin level as well as the indices of carbohydrate, protein, lipid metabolism in rats with experimental post-operative hypothyrosis.

Material and Methods: The study involved 70 male rats weighing 150-200 g, which underwent thyroidectomy followed by transplantation of organotypic TG culture separately or in combination with organotypic T culture. The transplantation was performed under the capsule of the left kidney. To assess the transplant function the kidney was removed on day 120. On day 127 the animals were euthanized. Blood serum thyroxin, cholesterol, albumin, glucose level after carbohydrate load were determined.

Results: Thyroxin level increase (up to 70% of the control parameters) was shown in the blood plasma of rats with experimental hypothyrosis on day 120 after xenotransplantation of organotypic TG culture separately or in combination with organotypic T culture. This effect was not due to regeneration of the proper TG, which was demonstrated at sharp reduction of thyroxin amount after removal of the kidney with the transplant.

Conclusion: Combined transplantation of organotypic TG culture with organotypic T culture elevates blood thyroxin level in rats with post-operative hypothyrosis. Organotypic T culture transplanted in combination not only promotes immune protection but also provides organotypic TG culture functional activity restoration after cryopreservation.

Key words: combined transplantation, thyroid gland, Sertoli cells, testicles.

Однією з поширених проблем клінічної ендокринології є відновлення втрачених функцій щитоподібної залози (ЩЗ). Внаслідок катастрофи на Чорнобильській АЕС та погіршення екологічного стану України надзвичайно збільшився відсоток радіогенного раку серед населення. Отже, це вимагає необхідності пошуку нових ефективних засобів лікування.

Використання замісної гормональної терапії при післяопераційному гіпотирозі не завжди адекватно і в повному обсязі забезпечує ендокринний гомеостаз у хворих. Крім того, три-

вале застосування гормональних препаратів викликає у пацієнтів низку ускладнень, які можуть спричинити інвалідизацію або смерть пацієнтів. Перспективним та найбільш фізіологічним методом лікування видається трансплантація тканин/клітин ЩЗ. Існують дані щодо трансплантації тканини ЩЗ аlogenного та ксеногенного походження. Тривалість і ефективність функціонування таких трансплантатів передусім залежить від формування повноцінної трофіки тканини та запобігання імунологічному відторгненню. Використання

методу гетеротопічної трансплантації без відновлення судинних зв'язків дозволяє уникнути кризи надгострого відторгнення, але не страхує від виникнення реакції гострого відторгнення, викликаной клітинною ланкою імунітету.

Комбінована трансплантація як шлях до поліпшення виживання клітинних та тканинних трансплантатів набуває в наш час все більшого визнання. При такому підході збільшення терміну життєдіяльності основного трансплантату можливе за умов використання імунопротекторних властивостей супутнього, який пересаджується у те ж саме місце. Наприклад, клітини Сертолі сім'яників (С) мають можливість пригнічувати проліферацію активованих Т- та В-лімфоцитів [1] і викликати їх апоптоз [2]. Це дає можливість острівцям підшлункової залози, трансплантованим разом із клітинами Сертолі, виживати набагато довше, ніж без них [3]. У праці [4] було показано тривале виживання (понад 90 діб) клітин Сертолі новонароджених поросят без використання імуносупресії. Але досі до кінця не з'ясовано, чи можуть незрілі клітини Сертолі, отримані від новонароджених донорів, адекватно виконувати імунопротекторну функцію при комбінованій трансплантації.

Відомо, що гормони ЦЗ разом із гіпофізарними гормонами ЛГ та ФСГ є головними регуляторами постнатального розвитку С. Неонатальний гіпотироз уповільнює дозрівання клітин Сертолі, що, в свою чергу, призводить до підвищення їх проліферації та збільшення маси С [5]. Фізіологічний рівень тироїдних гормонів впливає на кількість рецепторів до андрогенів, експресію ламініну, ентактину та маркерів клітинного диференціювання [6, 7], що приводить до нормального формування сім'яних каналців та зрілої популяції клітин Сертолі. Тобто за умов комбінованої трансплантації фрагментів ЦЗ і С, отриманих від новонароджених донорів, імовірний прояв ефекту взаємовпливу, який буде виражатися у прискореному дозріванні клітин Сертолі під дією тироїдних гормонів та, в свою чергу, повноцінне здійснення ними функції локальної імунологічної протекції графту ЦЗ.

З іншого боку, привертає увагу використання методу кріоконсервування фрагментів ЦЗ для

подальшої аутологічної трансплантації [8]. Однак відомо, що у процесі кріоконсервування тканини пошкоджуються, їх функція пригнічується. В цьому випадку клітини Сертолі можуть сприяти відновленню функції кріоконсервованої тканини завдяки здатності до секреції трофічних факторів. Так, у праці [9] було показано, що життєздатність клітин вентрального мезенцефалона підвищується після кріоконсервування, якщо вони були вміщені в середовище комбінованої культури з клітинами Сертолі.

Таким чином, метою представленої роботи було вивчення зміни рівня тироксину та деяких біохімічних показників крові щурів з експериментальним післяопераційним гіпотирозом за умов комбінованої трансплантації їм нативних та кріоконсервованих органотипових культур ЦЗ і С, отриманих від новонароджених поросят.

Методика дослідження

Дослідження було проведено на 70 щурах масою 150–200 г (1-ша група — контроль, 2-га — тироїдектомія, 8 дослідних груп з трансплантацією по 7 тварин у кожній), яких утримували в умовах віварію ІПКіК НАН України на стандартному харчовому раціоні (нормативи ГОСТ «Содержание экспериментальных животных в питомниках НИИ»). Всі маніпуляції з тваринами проводили відповідно до положення «Європейської конвенції захисту хребетних тварин, які використовуються з експериментальною та іншою науковою метою» (Страсбург, 1985) та під контролем Комітету з біоетики ІПКіК НАН України.

Органотипові культури ЦЗ і С новонароджених поросят отримували шляхом подрібнення залоз на фрагменти 0,5–1,0 мм³, які культивували протягом 3 діб у 2 мл живильного середовища 199 з додаванням 10 % теплоінактивованої сироватки великої рогатої худоби, 100 Од/мл пеніциліну, 75 мкг/мл канаміцину та 0,075 мкг/мл калію йодиду.

Отриману органотипову культуру щитоподібної залози (ОКЩЗ) та органотипову культуру сім'яників (ОКС) трансплантували тваринам з гіпотирозом. Тироїдектомію здійснювали за [10]. Частина органотипових культур надавали кріоконсервуванню. Заморожували ОКЩЗ під захистом 7 % -вого диметилсульфоксиду над дзеркалом рідкого азоту протягом 3 хв, що забезпечувало зниження температури у зразках зі швидкістю 85–100 °С/хв. Заморожували ОКС із 10 % -вим диметилсульфоксидом зі швидкістю 5 °С/хв. Відігрівання виконували на водяній бані при 37 °С до появи рідкої фази. Видаляли димексид шляхом триразового відмивання у 10 мл живильного середовища 199, після чого розморожені зразки перенесли в живильне середовище для рекульттивування протягом 2 діб за [11].

Трансплантацію нативних фрагментів залоз або органотипових культур здійснювали у дозі 30–35 мг/тварину під ниркову капсулу негайно після тироїдектомії. На 120-ту добу після трансплантації щурам видаляли нирку, що несла трансплантат. Усі операції проводили

під комбінованим наркозом (кетамін — 2,5 мг, ксила-
зин — 1 мг/100 г маси тварини). Щурів забивали на
127-му добу після трансплантації шляхом гільйотину-
вання після попереднього ефірного наркозу.

Рівень тироксину у сироватці крові щурів до та після
нефректомії визначали радіоімунологічним методом за
допомогою тест-набору РІА-Т4-СТ (Білорусь). Визнача-
ли рівні: альбуміну у сироватці — тест-набором «Філісіт
Діагностика» (Україна); холестерину — тест-набором
Chol 150 Lachema (Чехія); глюкози після вуглеводного
навантаження (0,05г/100 г маси тіла) — за допомогою
індикаторних пластинок «Гемоглан» на глюкометрі
«Глюкофот-П». Гормони та біохемічні показники крові
визначали в трьох паралельних пробах.

Статистичну обробку результатів проводили з викори-
станням програми ANOVA. Значення $p < 0,05$ вважали
статистично вірогідним.

Результати та їх обговорення

На 120-ту добу у сироватці крові щурів з усі-
ма трансплантатами рівень тироксину стано-
вив $30,74 \pm 2,70$ — $37,81 \pm 2,83$ нмоль/л,
що в середньому складало 70 % від кон-
трольних значень (рис. 1). У тироїдектомован-
их щурів концентрація тироксину складала
 $21,49 \pm 4,11$ нмоль/л (41,5 % від контролю).

З літератури відомо, що різке падіння рівня
тироксину у щурів спостерігається у перший
тиждень після тироїдектомії, тоді як далі він
підвищується і на 28-му добу досягає вже 45 %
від контрольних значень [12]. Автори пов'язу-
ють це з високою здатністю екстироїдальних
тироцитів проліферувати і вважають, що досягти
тотального гіпотироїдного статусу у щурів шля-
хом тироїдектомії без додаткового використан-
ня антитироїдних препаратів неможливо.

У зв'язку з цим у нашій роботі, щоб оцінити
внесок трансплантату у загальний тирогормоно-
поез, було використано видалення нирки, яка
мала під своєю капсулою трансплантат. Рівень
тироксину тестували через 7 днів після односто-
ронньої нефректомії, оскільки цей проміжок
часу відповідає періоду піврозпаду Т4 у крові.

На рис. 2 показано, як змінюється вміст ти-
роксину у сироватці крові щурів після нефрек-
томії. З наведених даних випливає, що односто-
роння нефректомія сама по собі на 25,5 %
підвищує рівень Т4 у контрольних тварин.
Цей факт свідчить про важливість ниркової
системи для загального метаболізму тироїдних
гормонів.

Відомо, що конверсія Т4 у Т3 каталізуєть-
ся йодтиронін-5'-дейодиназою. Так, речови-

на І типу є найбільш поширеною формою цього
ферменту, що міститься в самій щитоподібній
залозі, печінці та нирках. Недостатність селену,
який входить до складу йодтиронін-5'-дейоди-
нази І типу, призводила до повної втрати цього
ферменту, та, як наслідок, до підвищення на
50 % рівня Т4 [13]. Білатеральна нефректо-
мія з приводу вродженого нефротичного синдро-

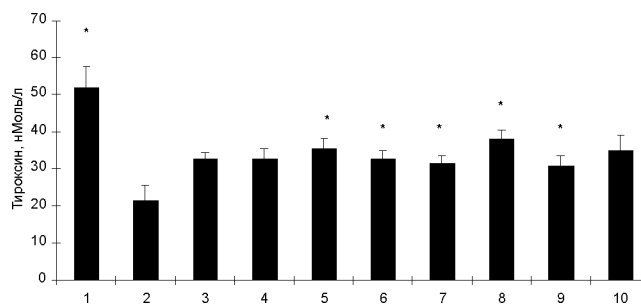


Рис. 1. Рівень тироксину у сироватці крові: 1 — контрольних щурів; 2 — рівень тироксину тироїдектомованих та із трансплантацією; 3 — нативні фрагменти ЩЗ; 4 — нативні фрагменти ЩЗ та С; 5 — ОКЩЗ; 6 — ОКЩЗ та ОКС; 7 — криоконсервована ОКЩЗ; 8 — криоконсервовані ОКЩЗ та ОКС; 9 — криоконсервована та рекультивована ОКЩЗ; 10 — криоконсервовані та рекультивовані ОКЩЗ та ОКС.

* різниця вірогідна порівняно з тироїдектомією ($p < 0,05$).

Fig. 1. Blood serum thyroxin level: 1 — the controls; 2 — thyroidectomized animals and those with transplantation; 3 — native TG fragments; 4 — native TG and T fragments; 5 — TGOC; 6 — TGOC and TOC; 7 — cryopreserved TGOC; 8 — cryopreserved TGOC and TOC; 9 — cryopreserved and recultivated TGOC; 10 — cryopreserved and recultivated TGOC and TOC

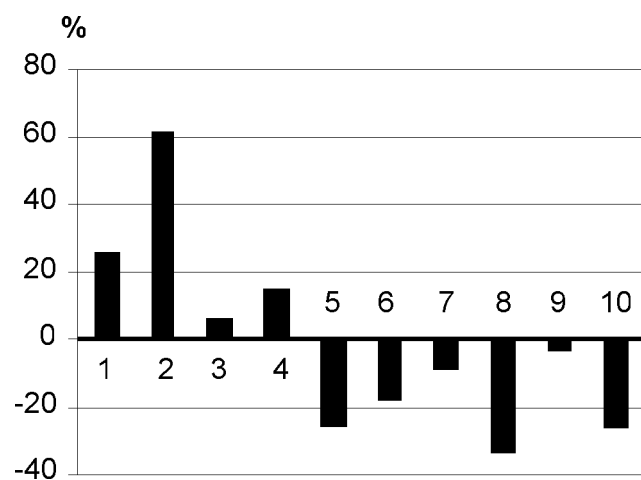


Рис. 2. Зміна рівня тироксину після односторонньої нефректомії у сироватці крові: 1 — контрольних; 2 — тироїдектомованих і щурів з трансплантацією; 3 — нативні фрагменти ЩЗ; 4 — нативні фрагменти ЩЗ та С; 5 — ОКЩЗ; 6 — ОКЩЗ та ОКС; 7 — криоконсервована ОКЩЗ; 8 — криоконсервована ОКЩЗ та ОКС; 9 — криоконсервована та рекультивована ОКЩЗ; 10 — криоконсервована та рекультивована ОКЩЗ та ОКС

Fig. 2. The changes in blood serum thyroxin level after unilateral nephrectomy: 1 — the controls; 2 — thyroidectomized animals and those with transplantation; 3 — native TG fragments; 4 — native TG and T fragments; 5 — TGOC; 6 — TGOC and TOC; 7 — cryopreserved TGOC; 8 — cryopreserved TGOC and TOC; 9 — cryopreserved and recultivated TGOC; 10 — cryopreserved and recultivated TGOC and TOC

му у пацієнтів, які додатково страждали на гіпотироз, приводила до нормалізації рівня Т4 [14].

Приріст Т4 після нефректомії особливо був помітним у тироїдектомованих тварин (61,6 % від значень до нефректомії). Саме така динаміка росту концентрації Т4 спостерігалася і в разі трансплантації нативних фрагментів ЦЗ окремо або вкупі із фрагментами С, хоч зростання було невеликим (6,2 і 14,7 %). Цікаво, що у решти експериментальних груп рівень Т4 після нефректомії не підвищувався, а навпаки, падав. Це свідчило про те, що у тварини цих груп основним депо синтезу тироїдних гормонів був трансплантат, видалення якого з організму разом із ниркою призвело до зниження рівня Т4. Найбільш значне зменшення рівня відбулося у групах із трансплантацією ОКЦЗ (25,8 %) і комбінованою трансплантацією ОКЦЗ з ОКС (18,05 %), кріоконсервованими ОКЦЗ з ОКС (33,7 %), кріоконсервованими та рекультивованими ОКЦЗ з ОКС (26,4 %).

Відомо, що недостатність тироїдних гормонів впливає на показники обміну речовин в організмі. У хворих на гіпотироз спостерігається гіперхолестеринемія як наслідок зменшення утилізації холестерину тканинами, та гіпоальбумінемія в результаті пригнічення синтетичних процесів. Порушення метаболізму вуглеводів проявляється зменшенням всмоктування глюкози у кишках та уповільненням утилізації її клітинами, що може змінити толерантність до вуглеводів при такому навантаженні. У зв'язку з цим у роботі були проведені вимірювання деяких біохімічних показників периферичної крові тварин — вмісту холестерину, альбуміну і глюкози. На рис. 3 представлені дані, що стосуються впливу нефректомії на вміст Т4, холестерину, альбуміну і глюкози в крові контрольних і тироїдектомованих тварин. Помітний ефект збільшення рівня альбуміну і зменшення рівня холестерину після нефректомії у тироїдектомованих щурів корелює із приростом Т4. Його вплив на вміст глюкози був менш вираженим, імовірно через те, що обмін даної речовини головним чином контролюється іншими гормонами. У контрольній групі тварин вірогідних змін досліджуваних показників після нефректомії не спостерігалася.

У плазмі крові щурів тих же експериментальних груп, в яких зменшувався рівень тироксину після видалення нирки з трансплантатом, також вірогідно зменшувався рівень альбуміну з тенденцією до зростання рівня холестерину порівняно з контролем (табл. 1).

Тест толерантності до глюкози виявив недостатність компенсації гіперглікемії лише у тварин з трансплантацією нативних фрагментів ЦЗ та С. У цілому результати вивчення показників обміну речовин підтверджували, що в групах тварин із трансплантацією ОКЦЗ і комбінованою трансплантацією ОКЦЗ з ОКС, кріоконсервованих ОКЦЗ й ОКС, кріоконсервованих та рекультивованих ОКЦЗ з ОКС трансплантат протягом дослідженого періоду виконував функцію секреції тироксину.

При моделюванні післяопераційного гіпотирозу на щурах існує складність вивчення функції трансплантату ЦЗ. Видалення видимої частини залози не дозволяє досягти повного зникнення тироїдних гормонів із крові і, як правило, спостерігається тенденція до відновлення їх рівня вже наприкінці першого місяця після операції [12, 15]. У такому разі експериментальний підхід, що полягає у трансплантації тканини ЦЗ під ниркову капсулу з наступним

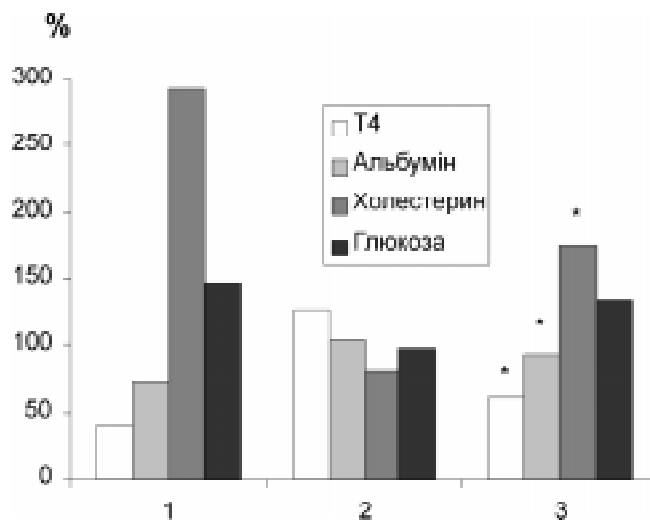


Рис. 3. Вміст тироксину, альбуміну, холестерину та глюкози у сироватці крові: 1 — тироїдектомованих щурів до нефректомії; 2 — контрольних — після нефректомії; 3 — тироїдектомованих — після нефректомії (дані представлені у відсотках від інтактного контролю)

* різниця вірогідна порівняно із відповідним контролем до нефректомії ($p < 0,05$).

Fig. 3. Blood serum thyroxine, albumin, cholesterol and glucose amount: 1 — thyroidectomized rats before nephrectomy; 2 — controls after nephrectomy; 3 — thyroidectomized after nephrectomy (% of the controls)

Показники білкового, ліпідного та вуглеводного обміну у щурів після трансплантації та нефректомії
The indices of protein, lipid and carbohydrate metabolism in rats after transplantation and nephrectomy

Умови експерименту	Альбумін, г/л	Холестерин, ммоль/л	Глюкоза, ммоль/л
Контроль	52,57 ± 2,31	2,05 ± 0,20	6,53 ± 0,29
Тироїдектомія	47,81 ± 0,59	4,78 ± 0,52 *	9,02 ± 0,51*
Трансплантація: нативних фрагментів ЩЗ	49,37 ± 0,62	2,10 ± 0,26	7,20 ± 0,11
Нативних фрагментів ЩЗ та С	44,18 ± 3,17	2,09 ± 0,24	7,71 ± 0,42*
Те ж ОКЩЗ	44,01 ± 5,70	2,78 ± 0,35	5,91 ± 0,34
Те ж ОКЩЗ та ОКС	42,92 ± 1,41*	2,58 ± 0,50	6,03 ± 0,55
Кріоконсервованої ОКЩЗ	45,18 ± 0,81	2,94 ± 0,16	6,73 ± 0,56
Кріоконсервованих ОКЩЗ та ОКС	44,25 ± 0,51*	2,98 ± 0,15	6,20 ± 0,58
Кріоконсервованої та рекультивованої ОКЩЗ	42,60 ± 0,82*	2,87 ± 0,33	6,72 ± 0,14
Кріоконсервованих та рекультивованих ОКЩЗ та ОКС	46,41 ± 1,75	2,89 ± 0,18	6,85 ± 0,54

* $p < 0,05$ — відмінність статистично вірогідна порівняно з контролем. Представлені дані двох експериментів.

видаленням органа, який несе трансплантат, може бути корисним для вивчення функції власне трансплантату.

При використанні даного підходу в представленій роботі було показано, що ксенографт нативних фрагментів ЩЗ, трансплантованих окремо або в комбінації з фрагментами С, практично не впливав на рівень тироксину у плазмі крові реципієнтів. У всіх інших групах спостерігався внесок трансплантату в загальний тирогормонопоез, особливо виражений за комбінованої трансплантації. Це вказує на те, що клітини Сертолі ОКС сприяють приживленню трансплантату ЩЗ. Водночас відсутність ефекту комбінованої трансплантації в групах з нативними фрагментами ЩЗ та С говорить про важливість етапу попереднього культивування тканини новонароджених донорів, необхідного для дозрівання клітин Сертолі і видалення гермінативної популяції [16]. Також це свідчить і про те, що присутність у місці трансплантації тироцитів, що секретують тироїдні гормони, впливає на дозрівання клітин Сертолі меншою мірою, ніж культивування.

Кріоконсервування не справляло значного пошкоджуючого впливу на функціонування трансплантату ОКЩЗ і може бути використане з метою довготермінового зберігання культур цих тканин для подальшої трансплантації. Рекультивування як процес, що поліпшує життєдіяльність кріоконсервованої тканини перед трансплантацією [11], у даній роботі не мало значного впливу на поліпшення гормональної

секреції трансплантату. У випадках окремих трансплантатів кріоконсервованої ОКЩЗ з рекультивуванням та без нього не спостерігалось значної різниці у продукції тироксину або зміні показників обміну речовин.

Відомо, що крім чинників імунологічної протекції, клітини Сертолі секретують трофічні й ростові фактори [2], які можуть поліпшувати посттрансплантаційне приживлення ізольованих клітин, підданих кріоконсервуванню [9]. Позитивний вплив клітин Сертолі на трансплантат кріоконсервованої ОКЩЗ з рекультивуванням та без нього знайдено також і у представленій роботі, де спостерігалось значне переважання гормон-продукуючої функції комбінованого графту порівняно з окремим.

ВИСНОВКИ

1. Комбінована трансплантація органотипових культур ЩЗ і С, отриманих від новонароджених поросят, підвищує рівень тироксину у плазмі крові щурів з експериментальним післяопераційним гіпотирозом. Даний ефект не є наслідком регенерації функції власної ЩЗ, що було показано при видаленні нирки, під капсулою якої містився трансплантат.

2. Процес культивування фрагментів ЩЗ і С підвищує ефективність комбінованої трансплантації у збільшенні рівня тироксину і нормалізації показників білкового, ліпідного і вуглеводного обміну.

3. Органотипова культура С за умов комбінованої трансплантації сприяє відновленню функціональної активності органотипової культури ЦЗ після криоконсервування.

Література

1. Selawry H. P., Cameron D. F. // *Cell Transplant.* — 1993. — Vol. 2. — P. 123–129.
2. Emerich D.F., Hemendinger R., Halberstadt C.R. // *Ibid.* — 2003. — Vol.12. — P. 335–349.
3. Dufour J.M., Gores P., Hemendinger R. et al. // *Ibid.* — 2004. — Vol.13. — P. 1–6.
4. Dufour J.M., Rajotte R.V., Seeberger K. et al. // *Xenotransplant.* — 2003. — Vol. 10. — P. 577–586.
5. Maran R. R. M. // *Arch. Androl.* — 2003. — Vol. 49, № 5. — P. 375–388.
6. Sisci D., Panno M.L., Salerno M. et al. // *Exp. Clin. Endocrinol. Diabet.* — 1997. — Vol. 105, № 4. — P. 218–224.
7. Buzzard J.J., Wreford N.G., Morrison J.R. // *Endocrinol.* — 2003. — Vol. 144, № 9. — P. 3722–3731.
8. Пушкарь Н.С., Македонская В.А., Утевский А.М. и др. // *Пробл. эндокринолог.* — 1984. — Т. 30, № 5. — С. 42–46.
9. Cameron D.F., Othberg A.I., Borlongan C.V. et al. // *Cell Transplant.* — 1997. — Vol. 6. — P. 185–189.
10. Легач Е.И. // *Трансплантол.* — 2005. — Т. 8, № 2. — С. 92–94.
11. Алабедацькарім Н.М., Божок Г.А., Бондаренко Т.П. Спосіб підготовки криоконсервованої органотипової культури надниркової залози для трансплантації // Патент № 4845, МПК7, № 12N5/08 A61K35/55, Публ. 15.02.05, Бюл. №2, 2005.
12. Шкуматов Л.М., Прядко К.А., Крылова И.И. и др. // *Пробл. эндокринолог.* — 2001. — Т.47, № 6. — С. 39–41.
13. Chanoine J. P., Safran A. P., Farwell P. et al. // *Endocrinol.* — 1992. — Vol. 131. — P. 479–484.
14. Chadha V., Alon U.S. // *Pediatr. Nephrol.* — 1999. — Vol.13, № 3. — P. 209–211.
15. Прядко К.А., Шкуматов Л.М., Горох Г.А. и др. // *Пробл. эндокринолог.* — 2000. — Т. 46, № 3. — С. 28–31.
16. Chevalier M., Dufaure J.P. // *Reprod. Nutr. Dev.* — 1980. — Vol. 20. — P. 251–259.

Надходження до редакції 23.08.2006.

Прийнято 13.10.2006.

Адреса для листування:

Легач Євген Іванович,
ІПКБ КМ НАН України,
вул. Переяславська, 23, Харків, 61015, Україна