

ДОСЛІДЖЕННЯ СПЕЦИФІЧНОЇ АКТИВНОСТІ НОВОЇ СПОЛУКИ НА ТИРЕОТОКСИЧНІЙ ЩИТОВИДНІЙ ЗАЛОЗІ ЛЮДИНИ IN VITRO

В.М.Кравченко, Т.С.Божко*

Національний фармацевтичний університет

Інститут проблем ендокринної патології ім. В.Я.Данилевського АМН України*

Ключові слова: щитовидна залоза; тироксин (T_4); трийодтиронін (T_3); тетракон; мерказоліл

Проведено дослідження специфічної активності потенційного препарату з антитиреоїдною дією тетракону (умовна назва) на фрагментах субопераційно одержаної щитовидної залози (ЩЗ) хворих з дифузним токсичним зобом у порівнянні з мерказолілом. Встановлено вірогідне зниження рівня вільного тироксину в інкубаційному середовищі після 3- і 18-годинної експозиції при дії досліджуваних препаратів, що може свідчити про їх вплив на секреторну активність щитовидної залози. В екстрактах ЩЗ було відмічено зниження вмісту тиреоїдних гормонів (тироксину і трийодтироніну) при дії тетракону в дозі 10^{-7} М та зниження тільки рівня тироксину в дозі 10^{-9} М при дії мерказолілу. Такий ефект препаратів може полягати в різному ступені їх впливу на гормоносинтетичну функцію залози. Виявлений переважаючий вплив тетракону на показник трийодтироніну, що дає можливість припустити присутність відмінного від мерказолілу тиреостатичного механізму дії.

Серед сучасних медико-соціальних проблем однією з найактуальніших є патологія щитовидної залози (ЩЗ). Це пов'язано з тим, що сумарна частота різних форм такої патології навіть поза зонами зобної ендемії складає не менше 20% від загальної захворюваності, а в ендемічних по зобу регіонах, де мешкає близько 1/3 людської populacji, ця цифра нерідко перевищує 50%. Принципи лікарської корекції гіропатологій полягають або в замісній гормональній терапії (при гіпотиреозі), або в медикаментозному, променевому і шляхом хірургічного втручання пригніченні активності залози (при гіпертиреозі). Тиреостатична терапія представлена переважно препаратами класу тіонамідів, які використовуються для лікування дифузного токсичного зобу (ДТЗ)

майже протягом 50 років. Ці препарати поряд з пригніченням функції ЩЗ виявляють різного ступеня струмогенну дію, лейкопенію, алергічні реакції тощо [5, 10, 11]. Тому пошук нових ефективних, патогномічних, малотоксичних тиреостатичних засобів на сьогодні є дуже актуальним.

У Національному фармацевтичному університеті після проведеного цілеспрямованого синтезу в ряду похідних 2-оксо-4-гідроксигінолонів була виявлена сполука з виразним антитиреоїдним ефектом, низькою токсичністю, у відношенні якої проводиться поглиблене дослідження з метою вивчення її як потенційного тиреостатичного лікарського засобу під умовною назвою "тетракон".

Метою запропонованої роботи стало вивчення специфічної ак-

тивності тетракону в умовах in vitro з використанням ЩЗ людини у відповідності з вимогами "Методичних рекомендацій по доклінічному дослідженню лікарських препаратів" [2].

Матеріали та методи

Робота виконана на 60 зразках щитовидної залози хворих на дифузний токсичний зоб (ДТЗ), одержаних субопераційно в хірургічному відділенні клініки Інституту проблем ендокринної патології ім. В.Я.Данилевського (ІПЕП). Встановлені в передопераційному періоді діагнози були підтверджені даними гістоморфологічного вивчення зразків видаленої частини залози, проведеного в лабораторії патоморфології клініки ІПЕП.

Антитиреоїдну активність тетракону в дозах 10^{-7} М і 10^{-9} М оцінювали за даними вмісту тиреоїдних гормонів тироксину (T_4) і трийодтироніну (T_3) у тканині щитовидної залози (ЩЗ) та за зміною рівня їх елімінації в інкубаційне середовище через 3 і

В.М.Кравченко — канд. біол. наук, доцент кафедри біологічної хімії Національного фармацевтичного університету (м. Харків)

Т.С.Божко — канд. біол. наук, старший науковий співробітник, завідувачка лабораторії фармакології Інституту проблем ендокринної патології ім. В.Я.Данилевського АМН України (м. Харків)

Вплив тетракону на секреторну активність тиреотоксичної щитовидної залози людини

Таблиця 1

Вплив	Вільн. Т ₄ , 3-год. інкубація		Вільн. Т ₄ , 18-год. інкубація	
	пмоль/л	% змін від контролю	пмоль/л	% змін від контролю
Контроль	38,75±2,28	-	60,20±3,21	-
ТТГ, 0,1 Мод/мл	51,20±3,08*	+33	87,53±4,61*	+45
Мерказоліл, 10 ⁻⁷ М	28,56±1,71*	-27	37,93±6,67*	-37
Мерказоліл, 10 ⁻⁹ М	25,88±2,50*	-34	44,51±3,58*	-27
Тетракон, 10 ⁻⁷ М	27,00±2,22*	-30	41,15±2,95*	-32
Тетракон, 10 ⁻⁹ М	25,50±1,94*	-35	42,53±2,91*	-30

Примітка. * — вірогідність різниці відносно контролю

18 год інкубації при температурі +37°C [1, 6]. Препарат порівняння "Мерказоліл" використовували у відповідних дозах. Вибір доз був заснований на тому, що концентрація речовин в інтервалі 10⁻⁷ М і 10⁻⁹ М в більшості випадків відповідає середньому фізіологічному рівню циркулюючих у крові лікарських засобів, які вводяться в терапевтичній чи мінімально ефективній дозі [9].

Рівень вільного Т₄ в інкубаті, вміст Т₄, Т₃ і тиреоглобуліну в екстрактах ЩЗ визначались за допомогою тест-наборів на імуноферментному аналізаторі.

Тест на чутливість тканини ЩЗ до здійснюваних впливів оцінювався за дією гормону гіпофізу тиреотропіну (ТТГ) на вміст тиреоїдних гормонів [7].

Одержані результати оброблені методом статистичного аналізу

з використанням критерію Ст'юдента — Фішера [3].

Результати та їх обговорення

Проведені дослідження показують, що експлантати ЩЗ хворих на дифузний токсичний зоб в умовах експерименту зберігають значну чутливість до дії тиреотропного гормону як після 3-годинної, так і після 18-годинної інкубації (табл. 1). Вміст вільного тироксину статистично вірогідно зростає на 33% і 45% відповідно до годин інкубації. Це свідчить про те, що тиреотоксична ЩЗ зберігає резервні можливості до відновлення біосинтезу тиреоїдних гормонів, хоча як показано в інших дослідженнях така ЩЗ у багатьох випадках більш рефрактерна до передбачених дослідженням впливів, а її реактивність у різному

ступені знижена в порівнянні з реактивністю еутиреоїдної тканини [4]. Дія тетракону і мерказолілу в обох досліджуваних дозах призвела до вірогідного зниження вмісту вільного тироксину через 3 і 18 год інкубації. Ступінь зниження вільного Т₄ був рівно ефективним для обох вивчаємих препаратів. Підсумовуючи, можна зазначити, що тетракон і мерказоліл пригнічують не тільки секреторну активність ЩЗ (за результатами 3-годинної інкубації), а й і процеси біосинтезу тиреоїдних гормонів.

Для підтвердження попередньої оцінки синтетичної активності залози за результатами вимірювання кількості вільного тироксину в інкубаті через 18 год експозиції більш інформативним етапом експерименту є визначення рівня Т₃ і Т₄ в екстрактах тканини ЩЗ. Одержані результати представлені в табл. 2. Оцінка тесту на ТТГ-чутливість залози показала, що в ній зберігається не тільки секреторна, але і резервна здатність тиреоцитів до гормоногенезу. Вміст Т₄ і Т₃ у тканині під впливом ТТГ вірогідно зростає на 64 і 50% відповідно в порівнянні з контролем. Мерказоліл вірогідно знижував тільки рівень тироксину (Т₄) в порівнянні з контролем у дозі 10⁻⁹ М. Тетракон у дозі 10⁻⁷ М призводив до зниження Т₃, і Т₄ в екстрактах тканини ЩЗ, а в меншій дозі зниження вмісту тиреоїдних гормонів не було вірогідним. При співставленні ефектів

Таблиця 2

Вплив тетракону на вміст тиреоїдних гормонів і тиреоглобуліну в екстрактах тиреотоксичної щитовидної залози людини

Вплив	Т ₄ в 1 мг тканини		Т ₃ в 1 мг тканини		Т ₃ /Т ₄		Тиреоглобулін	
	нмоль/л/мг	% змін від контролю	нмоль/л/мг	% змін від контролю		% змін від контролю	нг/мл/мг	% змін від контролю
Контроль	3,70±0,28		0,161±0,013		4,35±0,39		2,38±0,14	
ТТГ, 0,1 Мод/мл	6,06±0,59*	+64	0,242±0,024*	+50	3,99±0,31	-8	2,26±0,06	-5
Мерказоліл, 10 ⁻⁷ М	3,04±0,37	-18	0,151±0,016	-7	4,96±0,40	+14	1,97±0,16*	-17
Мерказоліл, 10 ⁻⁹ М	2,77±0,26*	-25	0,136±0,016	-16	4,91±0,36	+13	2,09±0,13*	-12
Тетракон, 10 ⁻⁷ М	2,76±0,19*	-25	0,118±0,011*	-27	4,27±0,37	-2	2,32±0,09	-3
Тетракон, 10 ⁻⁹ М	3,21±0,26	-15	0,138±0,009	-15	4,30±0,20	-	2,25±0,18	-6

Примітка. * — вірогідність різниці відносно контролю

обох препаратів привертає увагу особливість дії тетракону, спрямовану на більш виразне пригнічення утворення гормону Т₃, в той час як мерказоліл більше впливає на пригнічення утворення гормону Т₄. Така закономірність була відмічена і в раніше проведених нами експериментах. Слід зазначити, що виявлені ефекти тетракону і мерказолілу на досліджувані показники необхідно оцінювати з урахуванням передопераційної підготовки хворих на дифузний токсичний зоб, яким напередодні згідно із загальноприйнятими методами проводилась тиреостатична терапія.

Аналіз коефіцієнта відношення Т₃/Т₄ показав тенденцію до його незначного збільшення при

дії мерказолілу в обох досліджуваних дозах.

Вміст тиреоглобуліну в екстрактах фрагментів тиреотоксичної ЩЗ під впливом мерказолілу в обох використовуваних дозах вірогідно знижувався в порівнянні з контролем. Тетракон у порівнянні з контролем цей показник майже не змінював. Це може свідчити про те, що досліджуваний потенційний тиреостатик тетракон майже не впливає на цей етап утворення тиреоїдних гормонів. Мерказоліл, знижуючи вміст тиреоглобуліну, деякою мірою впливає на зазначений процес, але подібне пригнічення, як відомо, не є ключовим у механізмі гальмування синтезу тиреоїдних гормонів [3, 8].

Таким чином, проведені дослідження дозволили підтвердити тиреостатичний ефект потенційного лікарського засобу тетракону на зразках щитовидної залози хворих на дифузний токсичний зоб у порівнянні з мерказолілом.

ВИСНОВКИ

1. Досліджувана сполука тетракон не поступається за антитиреоїдною активністю відомому тиреостатику мерказолілу, а в дозі 10^{-7} М значно перевершує його вплив на вміст тиреоїдних гормонів, особливо Т₃, що може свідчити про дещо відмінний від мерказолілу механізм специфічної дії.

2. Встановлено вплив тетракону як на секреторну активність, так і на синтетичну функцію щитовидної залози в умовах *in vitro*.

ЛІТЕРАТУРА

1. Джоржеску П., Пуэнеску Б. *Биохимические методы диагноза и исследования*. — Бухарест: Медицинское издательство, 1963. — С. 29.
2. Доклінічні дослідження лікарських засобів / За ред. О.В. Стефанова. — К.: Видавничий дім "Авіцена", 2001. — С. 409-420.
3. Плохинский Н.А. *Математические методы в биологии*. — М.: Изд-во МГУ, 1978. — 285 с.
4. Ром-Богуславська О.С., Сомова О.В. // *Фізіол. журн.* — 1996. — Т. 42, №3-4. — С. 88-89.
5. Стокиет Д.Р. // *Thyroid international*. — 2000. — №2. <http://www.thyrolink.com>.
6. Селятицкая В.Г., Одинцов С.В., Обухова Л.А., Пальчикова Н.А. // *Пробл. эндокринолог.* — 1998. — №4. — С. 40-43.
7. Benvenega S., Robbins J. // *Endocrinol.* — 1998. — Vol. 139, №10. — P. 4311-4318.
8. Kim H., Lee T.H., Hwang Y.S. et al. // *Mol. Pharmacol.* — 2001. — Vol. 60, №5. — P. 972-980.
9. Kraiem Z., Sadeh O., Yosef M. et al. // *Endocrinol.* — 1995. — Vol. 136, №2. — P. 585-590.
10. Leech N.J., Dayan C.M. // *Clin. Endocrinol.* — 1998. — Vol. 49. — P. 273-280.
11. Weetman A.P. // *N. Engl. J. Med.* — 2000. — Vol. 343. — P. 1236-1248.

Адреса для листування: 61002, м. Харків,
вул. Мельникова, 12. Тел. (0572) 43-18-20.
Національний фармацевтичний університет

Надійшла до редакції 12.02.2004 р.