

Міністерство охорони здоров'я України
Національний фармацевтичний університет

ОРЛОВА ВІРА ОЛЕКСАНДРІВНА

УДК 616.441-008.64:616.092.9:615.332:615.451:615.035

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ ДОЦІЛЬНОСТІ ВИКОРИСТАННЯ
ЗАСОБІВ РОСЛИННОГО ПОХОДЖЕННЯ ДЛЯ ФАРМАКОКОРЕКЦІЇ
ГІПОФУНКЦІЇ ЩИТОПОДІБНОЇ ЗАЛОЗИ

14.03.05 – фармакологія

Автореферат
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата фармацевтичних наук

Харків – 2018

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана на кафедрі фізіології та анатомії людини Національного фармацевтичного університету Міністерства охорони здоров'я України, м. Харків.

Науковий керівник: доктор біологічних наук, професор
КРАВЧЕНКО Віра Миколаївна,
Національний фармацевтичний університет
МОЗ України (м. Харків),
завідувач кафедри біологічної хімії

Офіційні опоненти: доктор фармацевтичних наук, професор
ПОДПЛЕТНЯ Олена Анатоліївна,
ДЗ «Дніпропетровська медична академія
МОЗ України» (м. Дніпро),
завідувач кафедри загальної та клінічної фармації

доктор медичних наук, професор
ВОРОНИЧ-СЕМЧЕНКО Наталія Миколаївна,
ДВНЗ «Івано-Франківський національний медичний
університет» МОЗ України (м. Івано-Франківськ),
завідувач кафедри фізіології

Захист відбудеться «25» січня 2019 р. о 13.00 годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д.64.605.03 при Національному фармацевтичному університеті за адресою: 61002, м. Харків, вул. Пушкінська, 53.

З дисертацією можна ознайомитися у бібліотеці Національного фармацевтичного університету (61168, м. Харків, вул. Валентинівська, 4).

Автореферат розісланий «21» грудня 2018 р.

Учений секретар
спеціалізованої вченої ради,
д. фарм. н., проф.

Т. С. Сахарова

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Обґрунтування вибору теми дослідження. Патологія щитоподібної залози (ЩЗ) продовжує привертати увагу дослідників усього світу високою розповсюдженістю, складністю та недостатньою вивченістю патогенезу, різноманіттям форм та тяжкістю порушень функцій багатьох органів і систем організму. В Україні близько 47% загальної ендокринної патології складають захворювання ЩЗ (О. Ю. Городинська, Л. Є. Бобирьова, 2016; В. І. Ткаченко та співавт., 2018).

Гіпотиреоз – одна з найчастіших патологій ендокринної системи, що викликана дефіцитом тиреоїдних гормонів або зниженням їх біологічного ефекту на тканинному рівні. Поширеність гіпотиреозу в загальній популяції досягає 3,7% та залежить від віку, статі, рівня споживання йоду. Частота маніфестного гіпотиреозу становить 0,2–2,0%, субклінічного – до 10% у жінок і до 3% – у чоловіків (А. Carlé, 2015; О. Ю. Городинська, 2016; А. L. Aparicio-Claire, 2017). У 95% хворих спостерігається первинний гіпотиреоз (В. І. Паньків, 2012; F. Qari, 2014; M. R. Blum, 2015). Захворюваність має тенденцію до зростання (Е. А. McAninch, 2016; В. І. Ткаченко та співавт., 2018).

Глобальною медико-соціальною проблемою вважають захворювання ЩЗ, що пов'язані з йодним дефіцитом (ЙД). За даними ВООЗ йододефіцитні захворювання (ЙДЗ) посідають третє місце у списку 38 найбільш поширених неінфекційних захворювань; 2 млрд людей (третина населення світу) піддаються ризику розвитку ЙДЗ, у тому числі більше ніж 500 млн людей проживають у регіонах, де зафіксовані високі показники ЙД; у 740 млн чоловік діагностується ендемічний зоб; у 40 млн чоловік з цієї ж причини – розумова відсталість, у 6 млн – кретинізм (Е. А. Трошина, 2012; L. C. Pullen, 2014; S. Syed, 2015; P. N. Taylor, 2018). Йододефіцит продовжує залишатися невирішеною проблемою охорони здоров'я України, від чого населення України значною мірою зазнає його патологічного впливу (Е. N. Pearce, 2013; П. М. Боднар, 2016; Н. В. Скрипник, 2016; Н. Б. Зелінська, 2016).

Сучасні проблеми тиреоїдології включають вивчення, окрім етіології, патогенезу, гіперплазії щитоподібної залози, ще і питання медикаментозної корекції функціональних порушень тих органів, де протікають тиреоїдзалежні ланки метаболізму. Лікування всіх форм гіпотиреозу є замісним і довічним. Замісна гормонотерапія може викликати резистентність до препаратів, появу побічних ефектів (алергічні реакції, явища гіпертиреоза при застосуванні у надмірно високих терапевтичних дозах, остеопороз та ін.), супутні захворювання, що прогресують при гіпотиреозі тощо (А. В. Будневский, М. Ю. Каверзіна, 2011; А. Г. Овчинников и соавт., 2011; Э. Г. Гаспарян и соавт., 2012; Е. А. Трошина, М. Ю, Юкіна, 2012; X. Sun, 2014; Z. Javed, 2016).

За останні десятиліття лікувальна тактика захворювань ЩЗ, в тому числі пов'язаних з її гіпофункцією, істотно не змінилася (С. В. Филатова, 2010; О. В. Камінський, 2012; В. І. Паньків, 2014). Перелік лікарських препаратів, призначених для терапії і профілактики цієї патології, недостатній. На думку

фахівців в галузі тиреоїдології перспективним напрямом в підвищенні ефективності лікування захворювань ЩЗ є застосування фітопрепаратів як додаткових засобів (V. Triggiani et al., 2009; T. Takeuchi et al., 2011; А. Н. Кваченюк, 2012; L. Chun-hong, 2012; Т. Спринсян, 2013; Н. А. Кравчун, 2013).

В НФаУ проводяться пошук та дослідження лікарської рослинної сировини (ЛРС) з метою виявлення ефективних та перспективних субстанцій з тиреотропною дією та створення на їх основі лікарських засобів для профілактики і терапії захворювань ЩЗ, що супроводжуються її гіпофункцією (І. М. Владимірова, В. А. Георгіянц, 2011; В. М. Кравченко та співавт., 2014). Серед лікарських рослин обрана ламінарія цукриста (*Laminaria saccharina* L.), у складі якої міститься йод в органічній та неорганічній формах, інші мікронутрієнти, що є фармакодинамічними синергістами йоду (селен, купрум цинк тощо), та біологічно активні сполуки (БАС) – білки, замінні і незамінні амінокислоти, насичені та ненасичені жирні кислоти та їх похідні, фітостероли, вуглеводи, пуринові азотисті основи та ін. (В. Ф. Корсун, 2006).

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, грантами.

Дисертація виконана за планом науково-дослідної роботи Національного фармацевтичного університету «Фармакологічне вивчення біологічно активних речовин та лікарських засобів» (№ держреєстрації 0114U000956), в якій дисертант є співвиконавцем.

Мета і завдання дослідження. *Метою* дослідження було експериментальне обґрунтування доцільності пошуку та створення нових ефективних і безпечних засобів рослинного походження для фармакокорекції гіпофункції щитоподібної залози.

Для досягнення поставленої мети необхідно було вирішити наступні *завдання*:

1. Провести дослідження тиреостимулюючої дії водного екстракту та настоек спиртових (5%, 10%, 30%) ламінарії цукристої на інтактних тваринах для визначення перспективного об'єкта та встановлення залежності «концентрація-активність» засобу-лідера.
2. Визначити умовноефективну дозу засобу-лідера за тиреостимулюючою дією на інтактних тваринах і дослідити параметри гострої токсичності засобу-лідера.
3. Вивчити фармакотерапевтичну ефективність засобу-лідера за умов експериментального гіпотиреозу, індукованого мерказолілом, у порівнянні з Йодомарином.
4. Вивчити фармакотерапевтичну ефективність засобу-лідера за умов експериментального гіпотиреозу, індукованого перхлоратом натрію, у порівнянні з Йодомарином.
5. Визначити ефективність засобу-лідера при сумісному введенні з L-тироксинам на моделі мерказоліліндукованого гіпотиреозу у порівнянні з Йодомарином.
6. Встановити вплив засобу-лідера на гістологічну структуру щитоподібної залози за умов експериментальних моделей гіпотиреозу у порівнянні з Йодомарином.

7. Провести вивчення екстратиреоїдних впливів перспективного засобу на метаболічні процеси та про/антиоксидантний баланс у щурів з експериментальним гіпотиреозом.

Об'єкт дослідження: гіпотиреоїдні стани та їх фармакокорекція.

Предмет дослідження: тиреостимулюючі властивості, антиоксидантні властивості, безпека, тиреоїдні та позатиреоїдні ланки механізму дії засобів рослинного походження як коректора гіпофункції щитоподібної залози.

Методи дослідження. Фармакологічні (моделювання гіпотиреоїдного стану щитоподібної залози мерказолілом та перхлоратом натрію); токсикологічні (визначення гострої токсичності); масометричні (вимірювання маси ЩЗ і маси тіла лабораторних тварин і їх внутрішніх органів); біохімічні (встановлення тиреостимулюючих властивостей за рівнем гормонів тироксину (T_4) і трийодтироніну (T_3) та визначення тиреотропної функції гіпофізу за рівнем тиреотропного гормону (ТТГ) методом імуноферментного аналізу; визначення вмісту загального білка, альбуміна, сечовини, глюкози, глікогена, загальних ліпідів, холестерола, триацилгліцеридів, ліпопротеїнів низької та високої щільності (ЛПНЩ та ЛПВЩ), активних продуктів, що реагують з тіобарбітуровою кислотою (ТБК-АП), активності ферментів супероксиддисмутази (СОД), каталази, аспартат-амінотрансферази (АсАТ), аланінамінотрансферази (АлАТ, лактатадегідрогенази (ЛДГ), креатинкінази (КК), лужної фосфатази (ЛФ); гістологічні (дослідження структури ЩЗ); морфометричні (визначення зовнішнього діаметру фолікула, кількості та висоти тироцитів); статистичні (використано програму «Statistica 6.0», t-критерій Стьюдента, непараметричні методи, критерій Ньюмана-Кельса).

Наукова новизна отриманих результатів. У дисертаційній роботі уперше проведено фармакологічне дослідження нових засобів рослинного походження у галенових лікарських формах (водний екстракт ламінарії (ВЕЛ) та настойки ламінарії спиртові 5%, 10% і 30%) як потенційних лікарських препаратів для фармакокорекції гіпофункціональних станів щитоподібної залози та профілактики при йододефіциті.

Отримані нові дані щодо наявності тиреостимулюючої дії водного екстракту та настоек спиртових ламінарії цукристої, за вираженістю якої досліджувані об'єкти розташувались у такому ряді: ВЕЛ > настойка 10% > настойка 5% > настойка 30%. Визначено залежність тиреостимулюючої дії досліджуваних об'єктів від вмісту в їхньому складі йоду в діапазоні 0,5–2,5 мкг/100 г маси тіла тварин. Для ВЕЛ визначена пряма залежність «доза-ефект» по відношенню до обох тиреоїдних гормонів. Для настоек спиртових встановлена відсутність лінійної залежності від дози, а також прояв певних ознак токсичності з підвищенням концентрації спирту етилового.

На підставі узагальнення результатів для подальших досліджень обраний ВЕЛ, для якого визначена умовноефективна доза 1,06 мкг йоду/100 г маси тіла та належність до VI класу токсичності – відносно нешкідливі речовини за класифікацією К. К. Сидорова (1973) при внутрішньошлунковому введенні.

Отримані додаткові дані, які поглиблюють уявлення про механізм специфічної дії ВЕЛ за умов мерказоліл- та перхлоратіндукового гіпотиреозу. Встановлений

стимулюючий вплив ВЕЛ на рівень тиреоїдних гормонів у сироватці крові: підвищення T_4 на 37% ($p < 0,01$), T_3 – на 22% ($p < 0,05$) та 42% і 60% ($p < 0,05$), відповідно, що, ймовірно, обумовлено досить високим вмістом йоду в неорганічній та органічній формах; концентрація ТТГ зменшувалася в 2,3 раза та 1,8 раза ($p < 0,05$), що свідчить про здатність досліджуваного засобу впливати опосередковано на тиреотропну функцію гіпофізу; маса тіла наприкінці експерименту недостовірно збільшувалась на 13% і 4% у порівнянні з контрольною патологією та нормалізувалась температура тіла ($p < 0,05$) до рівня інтактного контролю, що є проявом поліпшення загального стану гіпотиреозних тварин. Встановлений ефект ВЕЛ нівелювати зміни гістоструктури ЩЗ, спричинені мерказолілом та перхлоратом натрію, запобігати їх струмогенному впливу (зменшувати, відповідно, масу ЩЗ у 3 раза ($p < 0,001$) і в 1,5 раза ($p < 0,01$) та нормалізувати морфометричні показники, що є морфологічним відображенням підвищення функціональної активності ЩЗ. За ступенем виразності досліджуваних ефектів ВЕЛ не поступався препарату порівняння синтетичного походження Йодомарину.

Розширені уявлення щодо можливого застосування ВЕЛ у комплексній терапії з L-тироксидом. Доведено, що у тварин з мерказоліловим гіпотиреозом при сумісному застосуванні ВЕЛ з препаратом L-тироксидом відбувається підвищення концентрації у сироватці крові T_3 і T_4 на 11% ($p > 0,05$) і 25% ($p < 0,05$) більше, ніж при застосуванні лише L-тироксиду. Рівень гормонів за дії Йодомарину за аналогічних умов експерименту достовірно не змінювався.

Поглиблені наукові поняття щодо екстратиреоїдних впливів ВЕЛ у щурів з експериментальним гіпотиреозом, що проявлялися коригуючою дією на показники метаболізму білків, вуглеводів, ліпідів та активність маркерних ферментів печінки: вміст у сироватці крові загального білка, сечовини, креатиніна, глюкози, глікогена в печінці та активність АсАТ, АлАТ і лужної фосфатази нормалізувались до рівня у тварин інтактного контролю. Особливо виразною виявлена здатність ВЕЛ коригувати показники ліпідного профілю: достовірно знижувати рівень проатерогенних чинників (загального холестерола і ЛПНЩ) та тригліцеридів.

Визначено, що складовою частиною вираженого специфічного тиреоїдстимулюючого ефекту ВЕЛ є його антиоксидантні властивості. ВЕЛ запобігав розвитку оксидативного стресу, нормалізував процеси ПОЛ в клітинах, знижуючи рівень ТБК-АП, відповідно, на 45% і 33% ($p < 0,05$). Порівняно з Йодомарином ВЕЛ виявив більш виражений вплив на ферментативну та неферментативну ланку АОЗ, достовірно відновлюючи активність СОД і вміст відновленого глутатіону ($p < 0,05$) при мерказоліловому гіпотиреозі.

Практичне значення отриманих результатів. Проведені в дисертаційній роботі дослідження є підставою для подальшого доклінічного вивчення, розробки і промислового виробництва нової лікарської форми – водного екстракту ламінарії з тиреостимулюючими властивостями. Впровадження ВЕЛ у практичну медицину сприятиме підвищенню ефективності лікування гіпотиреоїдних станів, зокрема, у осіб похилого віку з ризиком розвитку дисліпідемій і атеросклерозу, а також як засобу профілактики йододефіциту.

За результатами досліджень запропоновано спосіб моделювання експериментального гіпотиреозу у лабораторних тварин (патент на корисну модель № 109608, 2016 р., Україна).

Результати дисертаційної роботи впроваджені в науково-дослідну роботу кафедр: біоорганічної і біологічної хімії та клінічної біохімії Вищого державного навчального закладу України «Буковинський державний медичний університет (протокол № 9 від 13.12.2017 р.), фармації Навчально-наукового інституту післядипломної освіти ТДМУ ім. І. Я. Горбачевського (протокол № 1 від 10.01.2018 р.); фармакології Вищого державного навчального закладу України «Буковинський державний медичний університет (протокол № 11 від 24.01.2018 р.); лабораторій відділу експериментальної фармакології та токсикології ДУ «Інститут проблем ендокринної патології ім. В. Я. Данилевського НАМН України» (протокол № 7 від 19.12.2017 р.). Результати дисертаційного дослідження надані ТОВ «ДКП «Фармацевтична фабрика» м. Житомир для включення до Модулю 4 «Доклінічні дослідження» реєстраційного досьє на лікарський засіб «Екстракт ламінарії» (акт впровадження від 11 жовтня 2018 р.).

Особистий внесок здобувача. Безпосередньо дисертантом здійснено інформаційний пошук та аналіз літературних даних за темою дисертації, опановані методи досліджень. Разом із науковим керівником визначена мета і завдання дослідження; у співавторстві розроблена модель експериментального гіпотиреозу (патент на корисну модель № 109608, 2016, Україна), де дисертант самостійно здійснив вибір доз мерказолілу та провів визначення гормонів у сироватці крові. Брав участь у проведенні експериментальних досліджень ЛРС на виявлення тиреотропних властивостей, вивченні ефективності та механізмів дії ВЕЛ за умов модельної патології гіпотиреозу, визначенні токсичності. Дисертант самостійно провів математичну та статистичну обробку результатів, систематизував їх, підготував публікації до друку за основними положеннями дисертації; провів аналіз і узагальнення отриманих результатів, написав висновки, оформив дисертацію та автореферат. Гістологічні дослідження ЩЗ тварин з гіпотиреозом проведені на базі ЦНДЛ НФаУ за консультативної допомоги та участі ст. н. співр., к. біол. н. Лар'яновської Ю. Б.

Співавторами наукових праць є науковий керівник В. М. Кравченко та науковці, спільно з якими проведені деякі дослідження (В. А. Георгіянц, І. М. Владимірова, А. Г. Кононенко, О. А. Щербак, Ю. Б. Лар'яновська). Особисту участь здобувача наведено у списку опублікованих праць за темою дисертації.

Співавтором наукових праць дисертанта І. М. Владиміровою захищена дисертація на здобуття наукового ступеня доктора фарм. наук «Стандартизація підходів до цілеспрямованого пошуку лікарських засобів рослинного походження для лікування захворювань щитоподібної залози», Харків, 2014. Дисертаційна робота Орлової В. О. не містить матеріалів та висновків докторської дисертації І. М. Владимірової.

Апробація матеріалів дисертації. Основні положення роботи викладено та обговорено на науково-практичних конференціях різного рівня: 69-й научно-практической конференции студентов и молодых ученых с международным

участием «Актуальные проблемы современной медицины и фармации-2015» (Минск, 15–17 апреля 2015 г.); International Scientific and Practical Conference of Young Scientists And Student «Topical issues of new drugs development» (Kharkiv, 23 April, 2015); науково-практичній конференції з міжнародною участю «Ендокринна патологія у віковому аспекті»: (Харків, 26–27 листопада 2015 р.); підсумковій LIX науково-практичній конференції «Здобутки клінічної та експериментальної медицини» (Тернопіль, 15 червня 2016 р.); науково-практичній конференції з міжнародною участю «Дефіцит вітаміну Д та йоду: вплив на здоров'я й старіння людини» (Чернівці, 21–22 квітня 2016 р.); VIII Національному з'їзді фармацевтів України «Фармація ХХІ століття : тенденції та перспективи» (Харків, 13–16 вересня 2016 р.); VII Національному конгресі патофізіологів України з міжнародною участю «Патофізіологія і фармація: шляхи інтеграції» (Харків, 5-7 жовтня 2016 р.); науково-практичній конференції «Прикладні аспекти морфології» (Тернопіль, 20–21 жовтня 2016 р.); XIV міжрегіональній науковій конференції (Старобільськ, 22–23 грудня 2016 р.); V Національному з'їзді фармакологів України (Запоріжжя, 18–20 жовтня 2017 р.).

Публікації. За темою дисертації опубліковано 17 робіт, у тому числі 6 статей, 2 – у закордонних виданнях, 10 тез доповідей; отримано 1 патент на корисну модель.

Структура та обсяг дисертації. Дисертаційна робота викладена на 163 сторінках основного тексту, складається із вступу, анотації українською та англійською мовами, огляду літератури, розділу «Матеріали та методи дослідження», 4 розділів результатів власних досліджень, розділу «Аналіз та узагальнення результатів», висновків, списку використаних джерел, який містить 260 наукових джерел (кирилицею – 150, латиницею – 110), додатків. Робота проілюстрована 26 таблицею, 16 рисунками.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Матеріали та методи дослідження. На першому етапі фармакологічних досліджень з виявлення тиреотропних властивостей та визначення залежності рівня специфічного ефекту від лікарської форми і дози були досліджені зразки сланей ламінарії цукристої – водний екстракт (1:10), настойки спиртові 5%, 10% і 30% (1:5). Нові лікарські форми виготовлені та стандартизовані за вмістом йоду відповідно до вимог Державної фармакопеї України та Європейської фармакопеї доктором фармацевтичних наук І. М. Владимировою. Вивчення проводили в дозах 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5 мкг йоду/100 г маси тіла тварин, що в перерахунку за методом Ю. Р. Риболовлева для людини складає від 83 до 417 мкг на добу. Обрані фітозасоби вводили внутрішньошлунково, використовуючи розведення вихідних розчинів з розрахунку 1 мкг йоду/1мл рідини. При виборі діапазону доз враховували середньодобову дозу Йодомарину для людини, яка у перерахунку на щурів становила 1,2 мкг йоду/ 100 г маси тіла.

Виходячи із мети і завдань дисертаційної роботи, експериментальні дослідження виконували за алгоритмом, наведеним на рис. 1.



Рис. 1 Дизайн фармакологічних досліджень

Вивчення тиреотропних властивостей різних зразків проводили на інтактних щурах згідно Методичних рекомендацій ДЕЦ, Україна (О. В. Стефанов, 2001). Наявну тиреотропну активність оцінювали за рівнем у сироватці крові тиреоїдних гормонів – трийодтироніну (T_3) та тетраїодтироніну (T_4). Підвищення концентрації досліджуваних гормонів у сироватці крові тварин в порівнянні з контрольною групою за дії досліджуваних об'єктів трактувалося як тиреостимулюючий ефект, а зниження концентрації – як тиреостатичний (антитиреоїдний). Вміст T_4 , T_3 та ТТГ

визначали методом твердофазного імуноферментного аналізу з використанням імуноферментного мікросмушкового зчитувача STAT FAX 303 Plus та тест-систем (ТОВ «Хема», Росія).

Гостру токсичність водного екстракту ламінарії (ВЕЛ) встановлювали за методом Т. В. Пастушенко и соавт. (1985). Клас токсичності визначали за загальноприйнятою класифікацією К. К. Сидорова (1973).

На другому етапі досліджень здійснювали моделювання гіпотиреозу шляхом застосування мерказолілу (метимазол (тіамазол) порошок (субстанція для виготовлення нестерильних лікарських засобів) виробництва Innova Laboratories, Індія; сер. № МЕТ 13010/М, 2014 р., який був наданий ТОВ «ФК «Здоров'я»). Мерказоліл давали щурам масою 160-180 г у вигляді 0,05% розчину разом з питною водою у вільному доступі протягом 33 діб (В. М. Кравченко та співавт., 2016). Інша модель експериментального гіпотиреозу була відтворена щоденним вживанням перхлорату натрію у вигляді 1% розчину замість питної води протягом 40 діб (Т. М. Мищуніна та співавт., 2005). Препаратом порівняння слугував Йодомарин 100 (Potassium iodide, таблетки, які містять 131 мкг калію йодиду, що еквівалентно 100 мкг йодиду, виробництва Берлін-ХЕМІ АГ, Німеччина), який застосовували в дозі 12 мкг йоду/кг маси тіла, розраховану за методом Ю. Р. Риболовлева (1979), виходячи з середньої добової дози йоду для людини 200 мкг/добу. ВЕЛ застосовували у лікувальному режимі в умовноефективній дозі 1,06 мкг йоду/100 г маси тварин, визначеній за тиреостимулюючою дією на інтактних тваринах. Потенційні тиреостимулятори (ВЕЛ та Йодомарин) вводили внутрішньошлунково, починаючи з 13-ї та 21-ої доби прийому мерказолілу і перхлорату натрію, відповідно, тривалістю 21 день.

При вивченні ефективності ВЕЛ сумісно з L-тироксином використовували L-тироксин 100 (Levothyroxine sodium, таблетки, що містять 100 мкг левотироксину натрію, виробництва Берлін-ХЕМІ АГ, Німеччина) в дозі 6,7 мкг/кг, яку розраховували за методом Ю. Р. Риболовлева (1979) відповідно до добової замісної дози препарату для людини 1,6 мкг/кг (С. И. Третьяк, 2011).

Оцінку впливу ВЕЛ на перебіг експериментального гіпотиреозу проводили за широким комплексом параметрів: масометричних, що включають вимірювання маси тіла лабораторних тварин, маси ЩЗ і інших внутрішніх органів, вагових коефіцієнтів внутрішніх органів (Западнюк М. П. и соавт., 1983); біохімічних (рівень гормонів ТТГ, Т₃, Т₄ визначали методами, які наведені вище); морфологічними та морфометричними дослідженнями ЩЗ (Г. А. Меркулов, 1969). Для патоморфологічного аналізу щитоподібної залози були використані алгоритми гістологічного опису, розроблені О. К. Хмельницьким (1999). За допомогою програми Tourcam Granum вимірювали висоту фолікулярного епітелію і діаметр фолікулів в мкм, підраховували кількість тироцитів у стінці фолікула. Всі заміри проводили за допомогою окуляр-мікрометра у полі зору мікроскопу (Micros 400, Австрія).

Визначення біохімічних показників (загального білка, сечовини, креатиніна, глюкози, загального холестерола, загальних ліпідів, тригліцеридів, ЛПВЩ, ЛПНЩ) проводили з використанням тест-наборів ТОВ НВП «Філісіт-Діагностика»

(Україна), глікогена в печінці за методом Кемпа і Кітца (Н. П. Мешкова, С. Е. Северин, 1979). Активність АсАТ, АлАТ, лужної фосфатази, загальної лактатдегідрогенази визначали уніфікованими колориметричними методами з використанням наборів ТОВ НВП «Філісіт-Діагностика» (Україна), креатинкінази – з використанням наборів реагентів ТОВ «СпайнЛаб» (Україна).

Інтенсивність процесів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) оцінювали за вмістом ТБК-активних продуктів (ТБК-АП) (И. Д. Стальная, Т. Г. Гаришвили, 1977). Оцінку стану антиоксидантного захисту визначали за активністю ферментів каталази (М. А. Королюк и соавт., 1988), супероксиддисмутази (СОД) та рівнем відновленого глутатіону (Н. Г. Щербань и соавт., 2004). Досліджувані показники реєстрували у тварин групи інтактного контролю, групи контрольної патології (КП) та на тлі застосування препаратів.

Статистична обробка отриманих результатів проведена методами варіаційної статистики з використанням t-критерію Стьюдента і непараметричних методів з використанням критерію Ньюмана-Кельса при рівні достовірності $p \leq 0,05$ за допомогою комп'ютерних програм «Statistica 6,0» та MS Excel 2007 (С. Н. Лапач, 2001; О. Ю. Реброва, 2003).

Робота виконана на базі Проблемної лабораторії морфофункціональних досліджень НФаУ (Атестат акредитації НААУ № 2Н 502 від 27.12.2012 р.; подовжено № 2Н 1422 від 07.09.2017 р.; чинне до 06.09.2022 р.). Досліди проведені на 216 безпородних білих щурах обох статей, з них 99 тварин масою 80-100 г використані для проведення скринінгових фармакологічних досліджень та 117 тварин масою 180-200 г – для проведення досліджень на експериментальних моделях гіпотиреоза. Тварини утримувалися в однакових умовах, на стандартному раціоні відповідно до санітарно-гігієнічних вимог (Ю. М. Кожемякін, 2002) у віварії ЦНДЛ НФаУ (посвідчення № 058/15 від 08.12.2015 р.; чинне до 07.12.2019 р.). Усі експерименти проведені у відповідності до загальних етичних принципів експериментів на тваринах, регламентованих положеннями «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1986 р., зі змінами, 1998 р.) та Законом України № 3447-IV від 21.02.2006 р. зі змінами «Про захист тварин від жорстокого поводження», Наказу Міністерства освіти і науки, молоді та спорту України № 249 від 01.03.2012 р. «Порядок проведення науковими установами дослідів, експериментів на тваринах». Комісією з біоетики НФаУ (протокол № 10 від 18.10.2017 р.) порушень морально-етичних норм при проведенні науково-дослідної роботи не виявлено.

Результати та їх обговорення. На першому етапі фармакологічних досліджень водного екстракту та настоек спиртових 5%, 10% і 30% ламінарії у різних дозах за вмістом йоду (0,5; 1,0; 1,5; 2,0 мкг/100 г маси тіла) встановлено стимулюючу дію на продукцію гормонів ЩЗ різного ступеню виразності. Визначено достовірне підвищення рівнів гормонів трийодтироніну і тироксину в сироватці крові у інтактних щурів у межах 46–93% та 20–51%, відповідно, у порівнянні з контрольною групою тварин та встановлена залежність «доза-ефект». У настойки спиртової 5% у найменшій дозі 0,5 мкг йоду/100 г маси тіла відмічена помірна

тиреостатична дія по відношенню до обох тиреоїдних гормонів ($p > 0,05$). Для ВЕЛ встановлений виражений стимулюючий ефект на обидва тиреоїдні гормони з прямою залежністю «доза-ефект». У настойки спиртової 30% відмічені певні токсичні прояви (млявість, втрата апетиту, поодинокі загибель тварин). За здатністю стимулюючої дії на рівень гормонів T_3 і T_4 досліджувані об'єкти розташувались у такому ряді: ВЕЛ > 10% > 5% > 30% спиртові настойки.

Проведений порівняльний аналіз досліджених водного екстракту та настоек спиртових ламінарії цукристої за визначеним специфічним тиреостимулюючим ефектом, виявленими явищами інтоксикації при застосуванні настоек спиртових у високих дозах на організм тварин дозволив обрати для подальшого поглибленого вивчення водний екстракт ламінарії.

На другому етапі досліджень вивчено фармакотерапевтичну ефективність ВЕЛ на експериментальних моделях гіпотиреозу. За умов мерказоліліндукованого гіпотиреозу встановлено стимулюючу дію ВЕЛ на функціональну активність ЩЗ, що проявилось підвищенням рівня T_4 на 37% ($p < 0,01$), T_3 – на 22% ($p < 0,05$) та зниженням у 2,3 раза рівня ТТГ ($p < 0,01$) у порівнянні з групою тварин з КП (рис. 2).

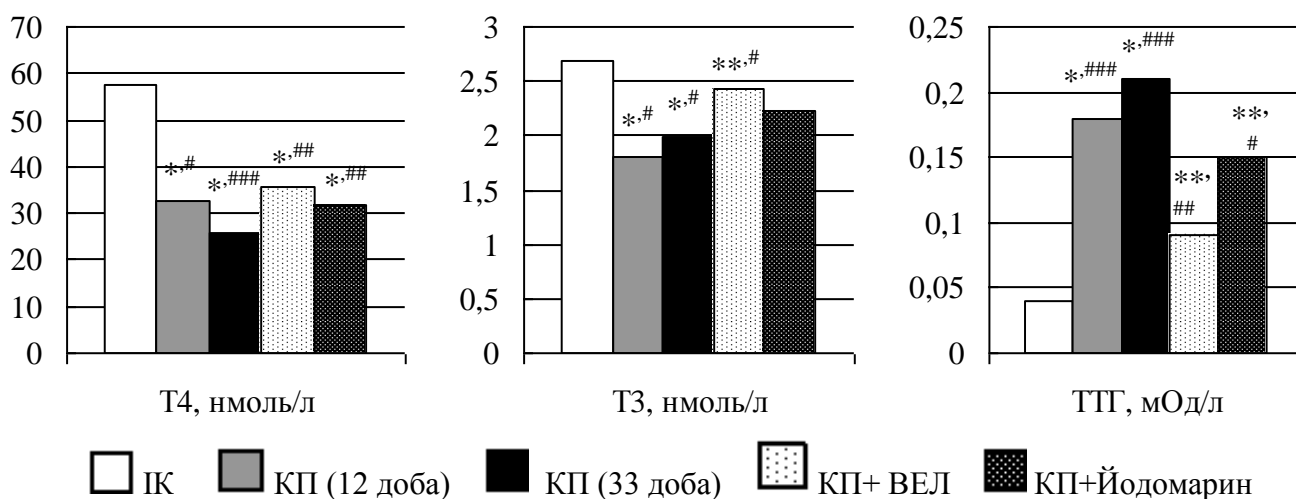


Рис. 2 Концентрація тиреоїдних гормонів і ТТГ у сироватці крові щурів за мерказоліліндукованого гіпотиреозу

Примітка. * – статистично значущі відмінності від групи ІК; ** – статистично значущі відмінності від групи КП на 33-ю добу; # – $p < 0,05$; ## – $p < 0,01$; ### – $p < 0,001$.

ВЕЛ застосовували в умовно ефективній дозі 1,06 мкг йоду/100 г маси тіла у лікувальному режимі протягом 21-ї доби (починаючи з 13-ї доби, визначеної як пік розвитку експериментального гіпотиреозу). При цьому рівень ТТГ знижувався в 2,3 раза ($p < 0,01$), але залишався ще підвищеним в 2,2 раза наприкінці дослідження у порівнянні з ІК ($p < 0,05$). Препарат порівняння Йодомарин, який застосовували в дозі 1,2 мкг йоду/100 г маси тіла за аналогічних умов експерименту, поступався за ефектам ВЕЛ, підвищуючи рівень гормонів T_4 на 22%, T_3 – на 12% та не відновлював рівень ТТГ, знижуючи концентрацію ТТГ в 1,4 раза відповідно, що можливо пояснити невеликим терміном експерименту. Переважаючий

тиреостимулюючий ефект ВЕЛ напевно обумовлений вмістом йоду в неорганічній (йодиди) і органічній формах (моно- та дийодтирозини) і наявністю в його складі мікроелементів (селену, купруму, цинку та ін.), які приймають участь в тиреоїдному метаболізмі.

На тлі гіпотиреозу, спричиненого перхлоратом натрію (рис. 3) встановлено достовірне зниження концентрації T_3 та T_4 на 39% ($p < 0,05$) та 55% ($p < 0,01$) у порівнянні з групою ІК, що супроводжувалось активацією процесів синтезу ТТГ: відбувається підвищення рівня ТТГ в 1,8 раза ($p < 0,01$), що пояснюється принципом негативного зворотного зв'язку (П. М. Боднар, 2010). Розрахований коефіцієнт T_3/T_4 підвищувався, відповідно, за рахунок більш значного зниження концентрації T_4 та може свідчити про переважаючий вплив мерказолілу на центральні механізми тиреосинтезу.

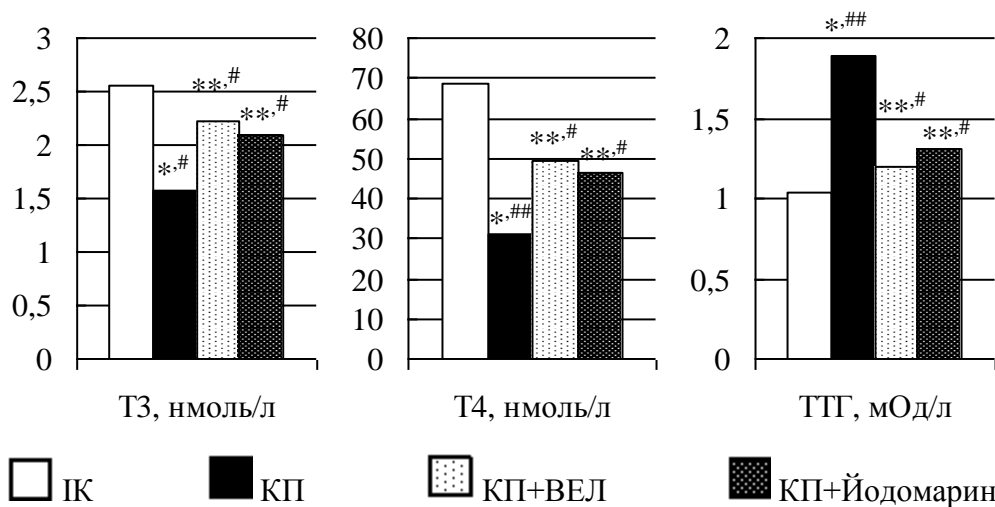


Рис. 3 Вміст тиреоїдних гормонів і ТТГ у сироватці крові щурів з експериментальним гіпотиреозом, викликаним введенням перхлорату натрію

Примітка. * – статистично значущі відмінності від групи ІК; ** – статистично значущі відмінності від групи КП; # – $p < 0,05$, ## – $p < 0,01$ – в порівнянні з ІК та КП.

Застосування ВЕЛ викликало достовірне підвищення концентрації T_3 і T_4 на 42% ($p < 0,05$) і 60% ($p < 0,01$), відповідно, та зниження ТТГ в 1,6 раза ($p < 0,05$). Препарат порівняння Йодомарин поступався за ступенем виразності тиреостимулюючої дії екстракту ламінарії, знижуючи рівень гормонів ЩЗ на 34% і 50% та підвищуючи концентрацію ТТГ на 44%.

З метою визначення ефективності ВЕЛ як додаткового засобу при гормонотерапії гіпотиреоїдних станів та розширення уявлень щодо механізму специфічної дії була проведена серія експериментів при одночасному застосуванні з препаратом L-тироксину.

При застосуванні L-тироксину у щурів з мерказоліловим гіпотиреозом відбувалося достовірне підвищення концентрації у сироватці крові дослідних тварин T_3 – в 2,2 раза ($p < 0,01$), T_4 – в 2,9 раза ($p < 0,01$) у порівнянні з КП. При сумісному введенні L-тироксину і ВЕЛ рівень T_3 підвищувався в 2,4 раза, а T_4 в 3,6 раза ($p < 0,01$). При цьому концентрація T_3 та T_4 зростала на 11% ($p > 0,05$) і 25% ($p < 0,05$)

більше в порівнянні з застосуванням лише L-тироксину. Коефіцієнт T_3/T_4 був вищим за такий у тварин з групи ІК, що може свідчити про стимулювання, ймовірно, синтезу гормонів, в цілому, та посилення периферичного дейодування T_4 в T_3 (П. М. Боднар, 2010), в результаті чого концентрація T_3 визначалася на рівні ІК. Рівень гормонів за дії Йодомарину сумісно з L-тироксидом практично не відрізнявся у порівнянні з застосуванням лише L-тироксину (рис. 4).

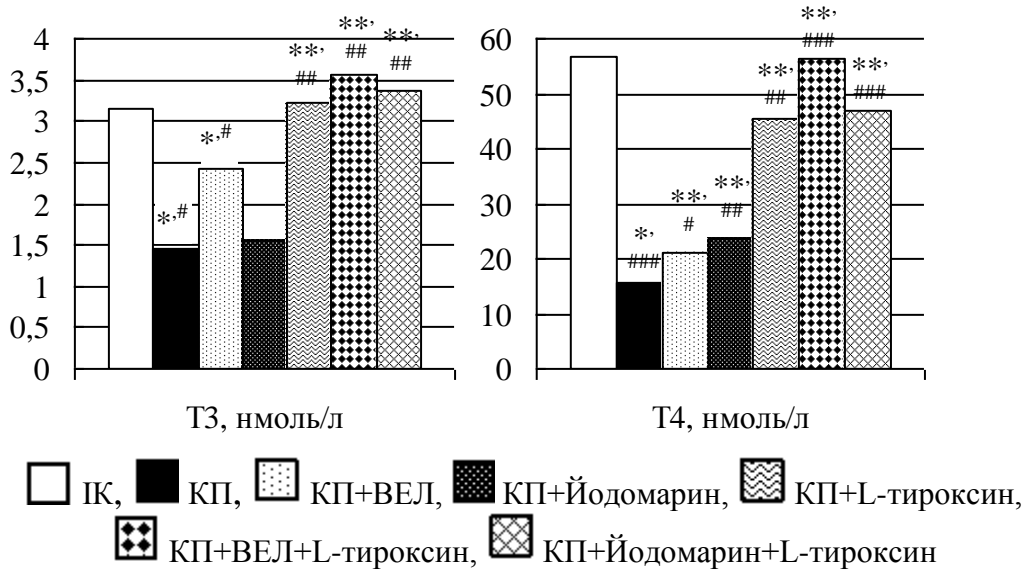


Рис. 4 Вміст тиреоїдних гормонів у сироватці крові щурів з гіпотиреозом на тлі введення тироксину і сумісного введення тироксину і досліджуваних засобів

Примітка. * – статистично значущі відмінності від групи ІК; ** – статистично значущі відмінності від групи КП; # – $p < 0,05$, ## – $p < 0,01$, ### – $p < 0,001$ – в порівнянні з ІК та КП.

Отже, сумісне застосування L-тироксину та ВЕЛ на тлі експериментального гіпотиреозу більш ефективно, ніж при застосуванні окремо L-тироксину, сприяло підвищенню рівня тиреоїдних гормонів, що може зменшити тяжкість побічних реакцій і дозволить знизити дози гормональних препаратів.

Отримані результати тиреостимулюючого ефекту ВЕЛ підтверджені морфологічними та морфометричними дослідженнями ЩЗ у тварин з експериментальним гіпотиреозом.

За умов гіпотиреозу, викликаного мерказолілом, відбувалися зміни структури ЩЗ: збільшення розмірів фолікул, дистрофія тироцитів, проліферація екстрафолікулярного епітелію, поява подушок Сандерсона та епітеліальних виростів у просвіт фолікула, відсутність або залишки колоїду у фолікулах (рис. 5). Морфометричні показники – діаметр фолікулів, висота та кількість тироцитів достовірно збільшувались ($p < 0,05$). Односпрямовані зміни в мікроструктурі ЩЗ спостерігалися і при перхлоратіндукованому гіпотиреозі.

За дії ВЕЛ відновлювалися розмір та форма фолікулів, спостерігалось зменшення проліферації екстрафолікулярного епітелію і розростання міжчасточкових сполучнотканинних прошарків, відбувалося утворення та накопичення колоїду, який повністю заповнював порожнину фолікула.

На відміну від ВЕЛ, Йодомарин не повністю відновлював структуру залози: на деяких ділянках зберігалася проліферація тироцитів та відсутність колоїду, були наявні різні за розміром і формою фолікули.

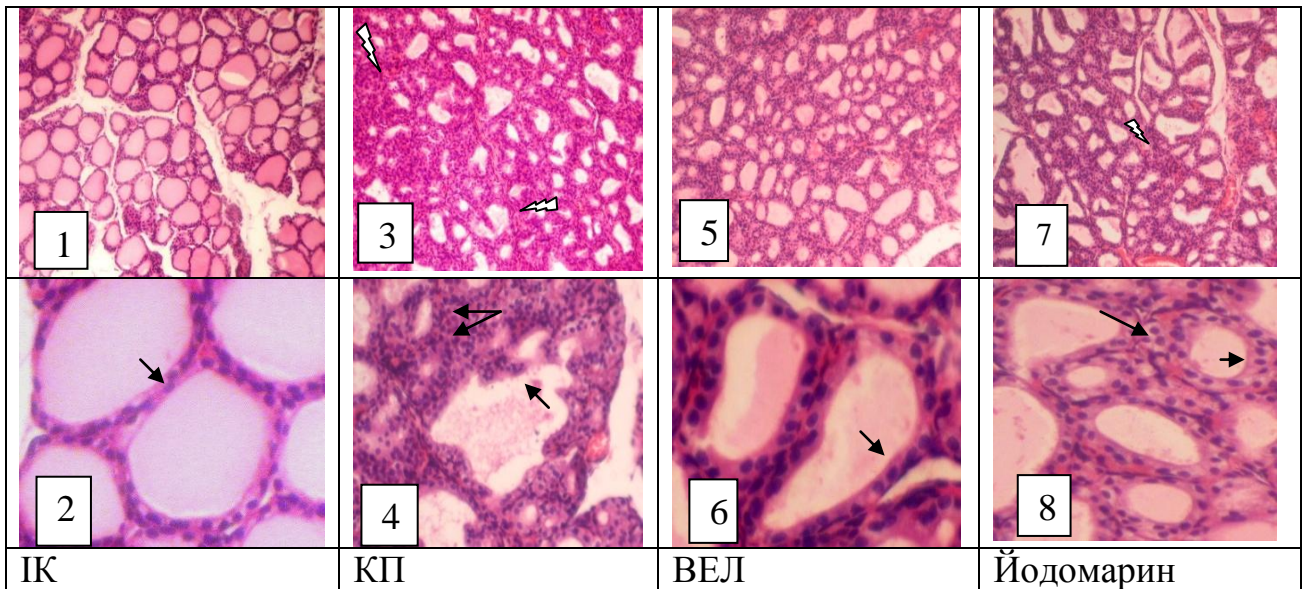


Рис. 5 Гістоструктура ЩЗ у щурів з мерказоліліндукованим гіпотиреозом на тлі застосування ВЕЛ та Йодомарину. Гематоксилін-еозин. 1,3,5,7 – x100; 2,6,8 – x250; 4 – x200

Морфометричні показники (зовнішній діаметр фолікулів, висота тироцитів) відновлювались практично до рівня ІК. Кількість тироцитів за дії ВЕЛ та Йодомарину достовірно зменшувалася проти КП, але не досягала рівня ІК ($p < 0,05$).

ВЕЛ виявив виразний переважаючий антизобогенний ефект на відміну від Йодомарину за результатами аутопсії ЩЗ на тлі розвитку експериментального гіпотиреозу. Маса ЩЗ зменшувалася у 3 рази на тлі застосування мерказоліла, в 1,5 рази – при застосуванні перхлората натрію і, відповідно, в 1,8 рази та в 1,4 рази при застосуванні Йодомарину. Описана вище мікроскопічна картина є морфологічним відображенням підвищення функціональної активності ЩЗ, зменшення виразності струмогенного ефекту, спричиненого мерказолілом та перхлоратом натрію.

Враховуючи патогенетичний підхід до вибору оптимальних шляхів фармакокорекції гіпофункціональних станів ЩЗ доцільним було вивчення впливу на процеси обміну речовин та встановлення позатиреоїдних ефектів ВЕЛ.

За маркерними показниками метаболізму білків у тварин з модельною патологією визначені недостовірні зміни концентрації загального білка, креатиніна і альбуміна ($p > 0,05$) у порівнянні з ІК. Лише при застосуванні мерказолілу відбувалося достовірне зростання рівня сечовини в 2 рази ($p < 0,01$), що може пояснюватися підвищеним катаболізмом білків при дефіциті гормонів ЩЗ та супроводжуватися розвитком продукційної азотемії (А. И. Кубарко, S. Jamashita, 1998). Застосування ВЕЛ в умовно ефективній дозі 1,06 мкг йоду/100 г маси тварин приводило до нормалізації вмісту сечовини до рівня ІК.

За змінами показників обміну вуглеводів визначено недостовірне зниження рівня глюкози у сироватці крові та достовірне збільшення вмісту глікогену ($p < 0,01$) в печінці при гіпотиреозі, спричиненого перхлоратом натрію у порівнянні з ІК. Виявлене підвищення глікогену може свідчити про зменшення інтенсивності катаболізму вуглеводів в клітинах, а зменшення концентрації глюкози в крові, можливо, відбувається за рахунок сповільнення всмоктування вуглеводів у кишечнику, засвоєння глюкози м'язовою та жировою тканинами (М. І. Бобрик, 2015). ВЕЛ, який застосовували у лікувальному режимі, наприкінці експерименту відновлював змінені рівні показників до значень у тварин ІК та переважав ефект Йодомарину на рівень глюкози ($p < 0,05$) при перхлоратному гіпотиреозі.

На тлі розвитку мерказоліл- та перхлоратіндукованого гіпотиреозу визначено розвиток дисліпідемій (гіперхолестеролемія, гіпертригліцеролемія, гіперліпідемія), що узгоджується з даними літературних джерел (Н. А. Кравчун и соавт., 2011; Л. Д. Белоцерковная и соавт., 2010; М. А. Власенко, В. С. Кулинич, 2014). На рис. 6 наведені результати дослідження показників при мерказоліловому гіпотиреозі.

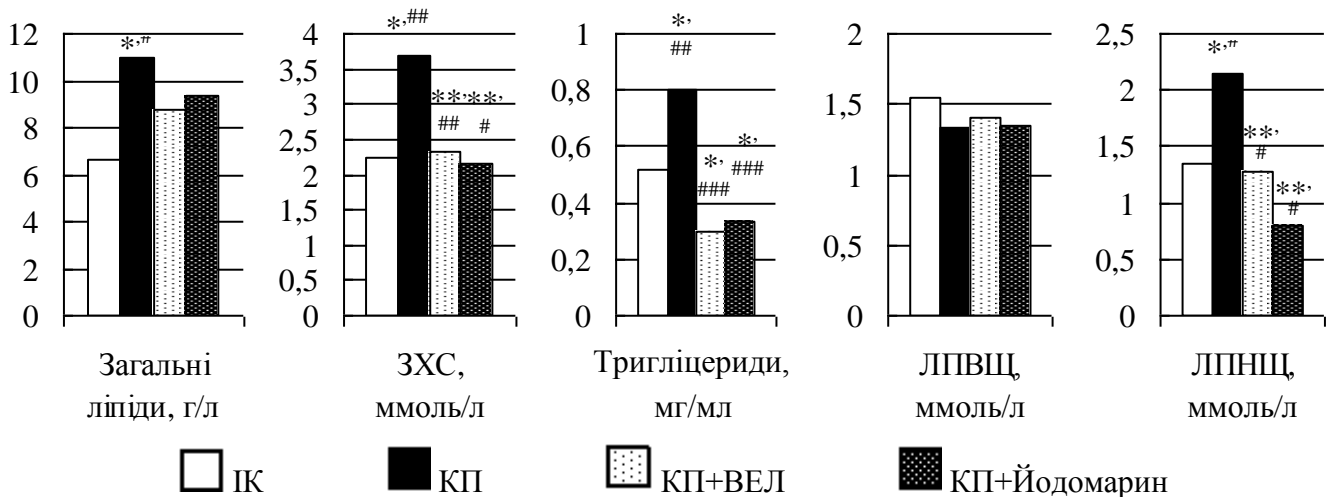


Рис. 6 Показники метаболізму ліпідів у сироватці крові щурів за мерказоліліндукованого гіпотиреозу

Примітка. * – статистично значущі відмінності від групи ІК; ** – статистично значущі відмінності від групи КП; # – $p < 0,05$, ## – $p < 0,01$, ### – $p < 0,001$.

Аналогічні односпрямовані зміни обраних показників зафіксовані і при перхлоратіндукованому гіпотиреозі. Застосування ВЕЛ приводило до достовірного зниження ($p < 0,05$) концентрації холестеролу, тригліцеридів та тенденційного зниження ($p > 0,05$) – загальних ліпідів. Рівнозначний за проявом та спрямованістю ефект на динаміку вмісту загального холестеролу, загальних ліпідів, тригліцеридів визначений у Йодомарину та переважаючий вплив на рівень ЛВНЩ з достовірною різницею у порівнянні з ВЕЛ ($p < 0,05$) у щурів з мерказоліловим гіпотиреозом. Поряд з цим Йодомарин, на відміну від ВЕЛ, достовірно знижував рівень ЛПВЩ за умов перхлоратного гіпотиреозу, що може привести до зниження процесів

антиатерогенного захисту. Встановлена здатність ВЕЛ у лікувальному режимі нормалізувати показники ліпідного профілю може мати клінічне значення та знижувати ризик розвитку атеросклерозу і серцево-судинних захворювань, особливо у людей похилого віку.

При оцінці функціонального стану печінки за показниками активності ферментів (АсАТ, АлАТ, креатинкінази, лужної фосфатази, лактатдегідрогенази) було встановлено, що тлі розвитку мерказолілового гіпотиреозу відбувається достовірне зниження активності АсАТ і АлАТ ($p < 0,05$) та недостовірне ($p > 0,05$) – за перхлоратіндукованого гіпотиреозу. Активність креатинкінази та лактатдегідрогенази за обох модельних патологій не зазнавала достовірних змін у порівнянні з інтактними тваринами. Активність лужної фосфатази достовірно ($p < 0,05$) знижувалась при перхлоратному гіпотиреозі. Визначене зниження активності ферментів відбувається, ймовірно, за рахунок сповільнення анаболічних процесів в цілому та в печінці, зокрема, за гіпофункції ЩЗ (Дж. Террермен, Х. Теппермен, 1989; А. И. Кубарко, S. Jamashita, 1998).

Застосування ВЕЛ сприяло повному відновленню активності АсАТ ($p < 0,05$) і недостовірному підвищенні активності АлАТ ($p > 0,05$) за обох моделей гіпотиреозу. За виразністю ефекту Йодомарин не поступався ВЕЛ.

Отримані результати дозволяють зробити заключення про позитивний коригуючий вплив досліджуваного ВЕЛ на метаболічні процеси на тлі розвитку експериментального гіпотиреозу. Встановлений коригуючий ефект водного екстракту ламінарії опосередковується, ймовірно, стимулюючою дією на синтез гормонів ЩЗ, а останні на тканинному рівні на метаболічні процеси, або є результатом додаткової позитивної дії БАС та мікроелементів, які наявні у складі ламінарії (Л. М. Поляков и соавт., 2014).

Для водного екстракту ламінарії встановлені антиоксидантні властивості, що підтверджуються нормалізацією процесів прооксидації у щурів з мерказоліл- та перхлоратіндукованим гіпотиреозом. Відбувалося достовірне зниження рівня ТБК-АП на 45% і 33% ($p < 0,05$) до значень інтактного контролю за дії ВЕЛ та на 94% і 89% ($p < 0,01$) за дії Йодомарину. Порівняно з Йодомарином застосування ВЕЛ приводило до достовірного збільшення активності СОД до рівня інтактного контролю за перхлоратного гіпотиреозу (рис. 7). Визначена тенденція до відновлення активності каталази і рівня глутатіону за обох експериментальних моделей гіпотиреозу на тлі застосування ВЕЛ. Йодомарин призводив до достовірного підвищення активності каталази ($p < 0,05$) при перхлоратному гіпотиреозі. Звідси можливо зазначити про майже рівнозначний ефект обох засобів на про-/антиоксидантні процеси.

Визначені антиоксидантні властивості у досліджуваного водного екстракту ламінарії можуть бути обумовлені значним вмістом селену та інших мікроелементів, які вважаються фармакодинамічними синергістами йоду і необхідні, зокрема, для синтезу селенобілків-ферментів тиреоїдного метаболізму (Ю. Я. Крюк и соавт., 2011; В. И. Паньків, 2014; И. А. Киселева, А. В. Каминский, 2015), а також дією біологічно активних сполук, що входять до складу ламінарії цукристої (Б. М. Зузук, Р. В. Куцик, 2004).

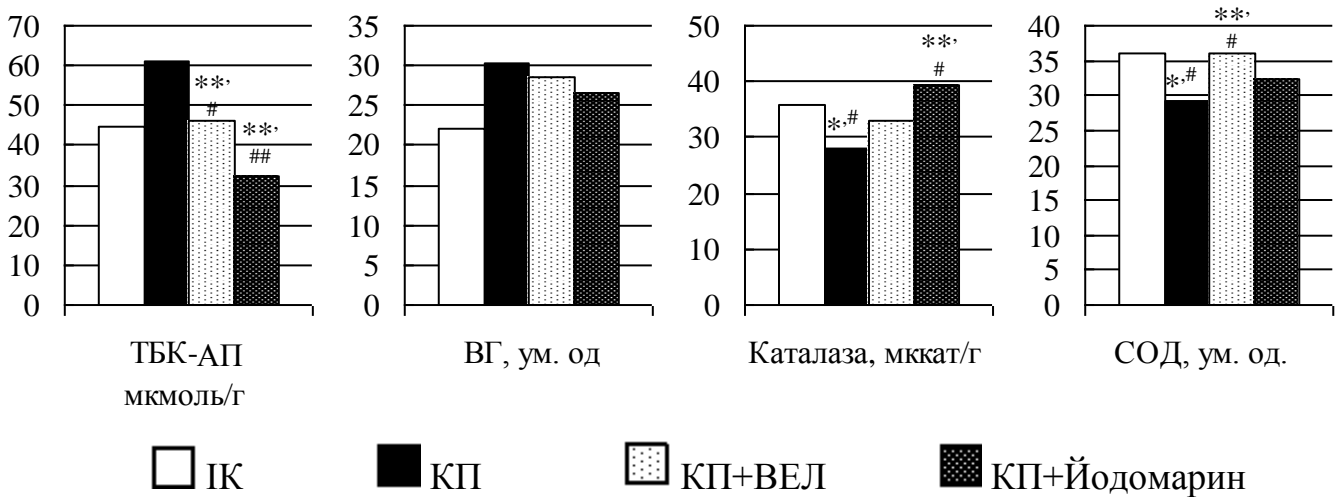


Рис. 7 Показники ПОЛ-АОЗ у сироватці крові щурів з експериментальним гіпотиреозом, викликаним введенням перхлорату натрію

Примітка. * – статистично значущі відмінності від групи ІК; ** – статистично значущі відмінності від групи КП; # – $p < 0,05$, ## – $p < 0,01$, ### – $p < 0,001$ – в порівнянні з ІК та КП.

Таким чином, досліджуваний водний екстракт ламінарії, який отриманий на кафедрі якості та стандартизації ІПКСФ НФаУ під керівництвом І. М. Владимирової шляхом комплексної переробки сланей ламінарії, виявив виразні стимулюючі ефекти на синтетичну функцію ЩЗ, опосередкований вплив на центральні регуляторні механізми в системі гіпофіз-ЩЗ, відновлював гістоструктуру ЩЗ, проявляючи антизобогенний ефект. Периферичні (екстратиреоїдні) механізми дії ВЕЛ обумовлені нормалізацією показників метаболізму білків, вуглеводів, ліпідів, функціонального стану печінки. Встановлені антиоксидантні властивості посилюють специфічний тиреостимулюючий ефект ВЕЛ.

ВИСНОВКИ

Сучасні проблеми тиреоїдології продовжують привертати увагу дослідників складністю патогенезу, високою розповсюдженістю, різноманіттям форм та тяжкістю порушень функцій ЩЗ і багатьох органів та систем організму, зниженням інтелектуальних здібностей, економічними збитками, пов'язаними з тимчасовою непрацездатністю населення. Одним із шляхів вирішення даної проблеми є створення та впровадження ефективних та безпечних лікарських засобів, що можуть застосовуватися для лікування і профілактики захворювань, зокрема, пов'язаних з гіпофункцією ЩЗ.

У дисертаційній роботі представлено вирішення актуального наукового завдання, яке полягає у експериментальному обґрунтуванні доцільності створення нових засобів рослинного походження для фармакокорекції гіпофункції щитоподібної залози з метою впровадження в медицину практику.

1. За результатами фармакологічного дослідження на інтактних тваринах встановлена наявність стимулюючого ефекту на продукцію гормону трийодтироніну

(від 46% до 93%) і тироксину (від 20% до 51%) у ВЕЛ та настоек спиртових 5%, 10% і 30%. За рівнем тиреостимулюючої дії досліджувані об'єкти розташувались у такому ряді: ВЕЛ > 10% > 5% > 30% спиртові настойки. Для ВЕЛ визначена пряма залежність «доза-ефект» по відношенню до обох тиреоїдних гормонів. У настойки спиртової 30% виявлені певні ознаки токсичності. За виразністю тиреостимулюючої дії та показниками безпеки для подальших поглиблених досліджень був обраний водний екстракт ламінарії (ВЕЛ).

2. За тиреостимулюючою дією визначена умовноефективна доза для ВЕЛ, яка становить за вмістом йоду 1,06 мкг/100 г маси тіла. Результати досліджень гострої токсичності при внутрішньошлунковому введенні щурам свідчать про відсутність токсичного впливу екстракту ламінарії на організм тварин, що дозволяє віднести його до VI класу токсичності – відносно нешкідливі речовини відповідно до загальноприйнятої класифікації К. К. Сидорова (1973).

3. На моделі мерказоліліндукованого гіпотиреозу встановлений тиреостимулюючий ефект ВЕЛ, що підтверджується достовірним підвищенням у сироватці крові T_4 – на 37% ($p < 0,01$), T_3 – на 22% ($p < 0,05$) та вплив на тиреотропну функцію гіпофізу за зниженням рівня ТТГ в 2,3 раза ($p < 0,05$). Коефіцієнт T_3/T_4 , як показник периферичної конверсії T_4 в T_3 , достовірно знижувався ($p < 0,05$) у порівнянні з КП, що може свідчити про посилення синтезу T_4 в ЩЗ. Препарат порівняння Йодомарин з достовірною різницею поступався ВЕЛ за впливом на рівень ТТГ (знижуючи, відповідно, в 1,4 раза, $p < 0,01$).

4. За дії ВЕЛ визначено стимулюючий ефект на синтез гормонів ЩЗ у щурів з гіпотиреозом, спричиненого перхлоратом натрію: достовірне підвищення вмісту T_4 – на 60% ($p < 0,01$), T_3 – на 42% ($p < 0,05$), що було більш виразним у порівнянні з мерказоліліндукованим гіпотиреозом. Визначене підвищення рівня тиреоїдних гормонів в крові призводило до зниження рівня ТТГ в 1,8 раза ($p < 0,01$), ймовірно, за принципом зворотного регулюючого зв'язку в системі гіпофіз–ЩЗ. Коефіцієнт T_3/T_4 у порівнянні з контрольною патологією достовірно не змінювався, що свідчить про відсутність переважаючого впливу на утворення одного з тиреоїдних гормонів. За виразністю дії на досліджувані показники ВЕЛ не поступався препарату порівняння Йодомарину. На тлі позитивного впливу на синтез тиреоїдних гормонів ВЕЛ покращував інтегральні показники загального стану тварин: маса наприкінці експерименту за умов обох моделей характеризувалася тенденцією до зростання, а температура тіла знижувалась до рівня ІК.

5. Встановлено, що при одночасному уведенні L-тироксину та ВЕЛ в умовах мерказоліліндукованого гіпотиреозу відбувається підвищення концентрації у сироватці крові дослідних тварин T_3 та T_4 на 11% ($p > 0,05$) і 25% ($p < 0,05$) більше у порівнянні з застосуванням лише L-тироксину. Рівень гормонів за дії Йодомарину та аналогічних умов експерименту достовірно не змінювався. Встановлений ефект ВЕЛ надає можливість рекомендувати його до застосування як додатковий засіб при гормонотерапії гіпотиреозу, що дозволить знизити дози препаратів і тяжкість побічних реакцій.

6. За даними гістологічних та морфометричних досліджень встановлено коригуючий вплив ВЕЛ на ЩЗ у щурів з мерказоліловим та перхлоратіндукованим

гіпотиреозом: відновлення форми фолікулів, антипроліферативна дія, утворення та накопичення колоїду, зменшення повнокровності тканини залози; достовірне зменшення зовнішнього діаметру фолікулів, висоти тироцитів та їх кількості у стінці фолікула ($p < 0,05$). Йодомарин поступався ВЕЛ за виразністю впливу на всі досліджувані показники. Для ВЕЛ визначена виразна антизобогенна дія, яка проявлялась у зменшенні маси ЩЗ у 3 рази ($p < 0,001$) у щурів з мерказоліловим та в 1,5 рази ($p < 0,01$) – з перхлоратним гіпотиреозом, на відміну від Йодомарину, застосування якого приводило до зниження маси ЩЗ, відповідно, в 1,8 рази ($p < 0,01$) та в 1,4 рази ($p < 0,01$). Встановлена мікроскопічна картина є морфологічним відображенням підвищення функціональної активності ЩЗ, зменшення виразності струмогенної дії мерказолілу та перхлорату натрію.

7. Екстратиреоїдні механізми дії ВЕЛ супроводжувалися нормалізацією в сироватці крові показників метаболізму білків (загального білка, альбуміна, сечовини, креатиніна), вуглеводів (глюкози і глікогену в печінці) та активністю маркерних ферментів функціонального стану печінки, що змінювалися у щурів з експериментальним гіпотиреозом. За дії ВЕЛ відбувалося достовірне зниження концентрації проатерогенних ліпідів – загального холестерола, ЛПНЩ ($p < 0,05$; $p < 0,01$) та тригліцеридів ($p < 0,01$) до рівня ІК і нижче. Йодомарин, на відміну від ВЕЛ, за умов перхлоратіндукованого гіпотиреозу достовірно знижував рівень антиатерогенних ліпідів – ЛПВЩ. Встановлений ефект ВЕЛ на показники ліпідного профілю може мати клінічне значення при ризиках розвитку атеросклерозу, серцево-судинних захворювань, та ін.

8. ВЕЛ виявив антиоксидантні властивості, запобігаючи розвитку оксидативного стресу. Нормалізувалися процеси ПОЛ у щурів з мерказоліл- та перхлоратіндукованим гіпотиреозом: рівень ТБК-АП достовірно знижувався на 45% і 33% ($p < 0,05$), а за дії Йодомарину більш виразно – на 94% та 89% ($p < 0,01$). ВЕЛ порівняно з Йодомарином продемонстрував переважаючий вплив на ферментативну та неферментативну ланку АОЗ, достовірно відновлюючи активність СОД і вміст відновленого глутатіону ($p < 0,05$) при мерказоліловому гіпотиреозі. Активність фермента каталази відрізнялася тенденцією до відновлення за обох моделей гіпотиреозу. Визначені антиоксидантні властивості ВЕЛ є складовою частиною специфічного тиреоїдстимулюючого ефекту.

9. Отримані результати обґрунтовують доцільність розробки та впровадження в медичну практику рідкої лікарської форми – водного екстракту ламінарії для комплексної терапії гіпотиреоїдних станів, зокрема, у осіб похилого віку з ризиком розвитку дисліпідемій і атеросклерозу, а також як засобу для профілактики йододефіциту.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Кравченко В. Н., Георгиянц В. А., Владимірова І. Н., Щербак Е. А., Орлова В. А., Кононенко А. Г. Изучение влияния лекарственных растений на функцию щитовидной железы. *Вестник Витебского государственного университета*. 2014. Т.13, №4. С. 149-154. (Особистий внесок: участь у проведенні експерименту, узагальненні результатів та підготовці статті до друку).

2. Кравченко В. Н., Георгиянц В. А., Владимирова И. Н., Кононенко А. Г., Орлова В. А., Щербак Е.А. Влияние лекарственных растений на уровень йодсодержащих гормонов щитовидной железы в крови у крыс. *Биологический журнал Армении*. 2014. №4(66). С.17-21. (Особистий внесок: участь у плануванні та проведенні експерименту, узагальненні результатів та підготовці статті до друку).

3. Кравченко В. М., Лар'яновська Ю. Б., Орлова В. О., Щербак О. А., Павиченко О. В., Владимирова І. М. Вплив екстракту ламинарії на морфофункціональний стан щитоподібної залози при експериментальному гіпотиреозі. *Український біофармацевтичний журнал*. 2015. №3 (38). С. 36-42. (Особистий внесок: участь в плануванні та проведенні експерименту, узагальненні результатів та підготовці статті до друку).

4. Orlova V. O., Kravchenko V. M., Scherbak O. A., Georgiyants V. A., Vladymyrova I. M. The study of the antigoitrogenic effect of the extract from laminaria on the model of mercazolilum-induced hypothyroidism. *Клінічна фармація*. 2016. Т. 20, №3. С. 29-33. (Особистий внесок: участь в плануванні та проведенні експерименту, узагальненні результатів та підготовці статті до друку).

5. Кравченко В. М., Орлова В. О. Дослідження впливу екстракта ламинарії на показники ліпідного обміну у щурів з експериментальним гіпотиреозом. *Український журнал клінічної та лабораторної медицини*. 2016. Т.11, №4. С. 68- 73. (Особистий внесок: участь в плануванні експерименту, узагальненні результатів та підготовці статті).

6. Кравченко В. М., Орлова В. О., Лар'яновська Ю. Б., Сахарова Т. С. Дослідження впливу екстракту ламинарії на морфологічний стан щитоподібної залози щурів з експериментальним гіпотиреозом, спричиненим перхлоратом натрію. *Український біофармацевтичний журнал*. 2017. №6 (53). С. 50-55. (Особистий внесок: участь в плануванні та проведенні експерименту, узагальненні результатів та підготовці статті до друку).

7. Кравченко В. М., Кононенко А. Г., Щербак О. А., Орлова В. О., Карпенко Н. О., Коренева Є. М. Спосіб моделювання експериментального гіпотиреозу у лабораторних тварин: пат. України на корисну модель № 109608. U 2016 02673; заявл. 17.03.2016; опубл. 25.08.2016, Бюл. № 16. 5 с. (Особистий внесок: участь у патентному пошуку, проведенні експериментальних досліджень та оформленні патенту).

8. Орлова В. А., Щербак Е. А. Изучение влияния водного экстракта ламинарии на показатели углеводного обмена у крыс. *Актуальные проблемы современной медицины и фармации-2015: сб тез. докл. 69-й научн.-практ. конф. студентов и молодых ученых с междунар. участием. 15-17 апреля 2015 г. г. Минск: БГМУ, 2015. С.1637.*

9. Orlova V. O. Change of triglyceride levels in rats with hypothyroidism when using extract of Laminaria. *Topical issues of new drugs development: Abstracts of International Scientific and Practical Conference of Young Scientists and Student. April 23, 2015. Kharkiv: Publishing Office NUPh, 2015. P. 328.*

10. Орлова В. О., Кравченко В. М., Владимирова І. М., Щербак О. А., Кононенко А. Г. Пошук лікарських рослин з тиреотропними властивостями.

Ендокринна патологія у віковому аспекті: мат. наук.-практ. конф. з міжнар. участю. м. Харків, 26-27 листопада 2015 р. С. 75.

11. Орлова В. О., Кравченко В. М. Вивчення ефективності дії водного екстракту ламінарії та левотироксину при сумісному введенні в умовах експериментального гіпотиреозу. *Здобутки клінічної та експериментальної медицини*: мат. підсумкової LIX наук.-практ. конф. м. Тернопіль, 15 черв. 2016 р. Тернопіль: ТДМУ, 2016. С. 159.

12. Орлова В. О., Кравченко В. М. Вплив водного екстракту ламінарії на показники білкового обміну за умов експериментального гіпотиреозу. *Мат. наук. – практик. конф. з міжнар. участю Дефіцит вітаміну Д та йоду: вплив на здоров'я й старіння людини*: мат. наук.-практ. конф. з міжнар. участю. м. Чернівці, 21-22 квітня 2016 р. *Міжнародний ендокринологічний журнал*. 2016, №2 (74). С. 180.

13. Кравченко В. М., Орлова В. О. Дослідження динаміки показників обміну білків за умов гіпотиреозу, викликаного перхлоратом натрію. *Фармація XXI століття: тенденції та перспективи*: мат. VIII Нац. з'їзду фармацевтів України. м. Харків, 13-16 вересня 2016 р. У 2 т. Т. 2. Харків: НФаУ, 2016. С. 70.

14. Кравченко В. М., Орлова В. О. Функціональний стан печінки при експериментальному гіпотиреозі. *Патофізіологія і фармація: шляхи інтеграції*: VII Національний конгрес патофізіологів України з міжнар. участю. м. Харків, 5-7 жовтня 2016 р.: тези доп. Х.: Вид-во НФаУ, 2016. С. 125.

15. Кравченко В. М., Орлова В. О. Морфологічна характеристика щитоподібної залози на тлі введення перхлорату натрію і водного екстракту ламінарії. *Прикладні аспекти морфології*: зб. мат. наук.-практ. конф. м. Тернопіль: 20-21 жовтня 2016 р.: тези доп. Тернопіль, ТДМУ, 2016. С. 88-90.

16. Орлова В. О., Кравченко В. М. Дослідження рівня глікогена та глюкози у сироватці крові у щурів з експериментальним гіпотиреозом та при застосуванні екстракта ламінарії. *Мат. XIV міжрегіональної наукової конференції*. м. Старобільськ, 22-23 грудня 2016 р. ДЗ «ЛНУ ім. Тараса Шевченка. Старобільськ, 2017. С. 122-123.

17. Орлова В. О., Кравченко В. М. Дослідження впливу екстракту ламінарії на показники антиоксидантної системи в тварин з експериментальним гіпотиреозом. *V Нац. з'їзд фармакологів України*. м. Запоріжжя, 18-20 жовтня 2017 р.: тези доповідей. Запоріжжя, 2017. С. 102.

АНОТАЦІЯ

Орлова В. О. Експериментальне обґрунтування доцільності використання засобів рослинного походження для фармакокорекції гіпофункції щитоподібної залози. – На правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук за спеціальністю 14.03.05 – фармакологія. – Національний фармацевтичний університет, Харків, 2018.

Дисертаційна робота присвячена дослідженню водного екстракту ламінарії з метою розробки і створення лікарського препарату для підвищення ефективності

терапії захворювань щитоподібної залози, що супроводжуються гіпофункцією, або використання як профілактичного засобу при йодному дефіциті.

На моделях гіпотиреозу, індукованих мерказолілом і перхлоратом натрію, встановлений стимулюючий ефект водного екстракту ламінарії на синтез гормонів T_4 і T_3 (підвищення рівня на 37% і 22% та 60% і 42% ($p < 0,05$) та зниження рівня ТТГ в 2,3 і 1,6 раза, відповідно. При дослідженні ефективності екстракту ламінарії як додаткового засобу при гормонотерапії гіпотиреозу L-тироксинам встановлено, що при їх одночасному застосуванні відбувається більш виразне підвищення T_3 і T_4 у порівнянні з використанням тільки L-тироксину.

Гістологічні та морфометричні дослідження показали коригуючий вплив водного екстракту ламінарії на структуру щитоподібної залози у щурів з гіпотиреозом: антипроліферативну дію, відновлення форми і кількості тироцитів, зменшення виразності струмогенного ефекту мерказоліла і перхлората натрію.

Встановлені позатиреоїдні механізми дії водного екстракту ламінарії супроводжувалися нормалізацією показників метаболізму білків, вуглеводів, ліпідів, активності маркерних ферментів печінки і про/антиоксидантного балансу, які змінювалися на тлі розвитку експериментального гіпотиреозу.

Токсикологічними дослідженнями доведено, що водний екстракт ламінарії відноситься до VI класу токсичності – відносно нешкідливі речовини за класифікацією К. К. Сидорова.

Ключові слова: щитоподібна залоза, тиреоїдні гормони, тиреотропний гормон, експериментальний гіпотиреоз, водний екстракт ламінарії, Йодомарин, тиреостимулюючий ефект, метаболізм, про/антиоксидантні властивості.

АННОТАЦІЯ

Орлова В. А. Экспериментальное обоснование целесообразности использования средств растительного происхождения для фармакокоррекции гипотиреоза щитовидной железы. – На правах рукописи.

Диссертация на соискание научной степени кандидата фармацевтических наук по специальности 14.03.05 «фармакология». – Национальный фармацевтический университет, МЗ Украины, Харьков, 2018.

Диссертационная работа посвящена исследованию тиреотропных свойств различных лекарственных форм ламинарии сахаристой с целью выявления наиболее перспективной формы для разработки и создания лекарственного средства для улучшения эффективности терапии гипотиреоза состояний ЩЖ или использования в качестве профилактического средства при йодном дефиците.

По результатам фармакологического скрининга на интактных животных установлено влияние на содержание гормонов тироксина и трийодтиронина в сыворотке крови водного экстракта и спиртовых настоек 5%, 10%, 30% ламинарии сахаристой разной степени выраженности (повышение уровня гормонов от 20% до 93%) и определена зависимость силы эффекта от дозы.

На моделях гипотиреоза, индуцированных мерказолілом и перхлоратом натрия, установлено, что перспективная лекарственная форма – водный экстракт

ламинарии в лечебном режиме в дозе 1,06 мкг йода/100 г массы тела оказывает стимулирующее действие на синтез гормонов T_4 и T_3 (происходит достоверное повышение концентрации на 37% и 22% и 60,0% и 42,0% соответственно) и влияние на тиреотропную функцию гипофиза (снижение уровня ТТГ в 2,3 раза и 1,6 раза). При исследовании эффективности ВЭЛ в качестве дополнительного средства при гормонотерапии гипотиреоза L-тироксидом определено, что при одновременном введении L-тироксина и экстракта ламинарии происходит более выраженное повышение в сыворотке крови T_3 и T_4 (на 11% и 25%) по сравнению с применением только L-тироксина.

Морфологические исследования показали, что при применении мерказолила и перхлората натрия у крыс ингибируется функциональная активность ЩЖ, возникает микроскопическая картина гипотиреоидного состояния с определенной степенью выраженности гиперпластических процессов. При действии ВЭЛ гистологическое строение железы крыс восстанавливалось и приближалось к состоянию у интактных животных. Определяемые морфометрические показатели (количество, внешний диаметр и высота тироцитов) также сопоставлялись с исходными данными ИК. Определен выразительный антизобогенный эффект ВЭЛ, который проявлялся в снижении струмогенного влияния мерказолила – уменьшении массы ЩЖ в 3 раза ($p < 0,001$) у животных с мерказолиловым гипотиреозом. Препарат сравнения Йодомарин по этому показателю уступал экстракту ламинарии на 32% ($p < 0,05$). У животных с перхлоратиндуцированным гипотиреозом ВЭЛ также вызывал снижение массы ЩЖ в 1,5 раза, а при действии Йодомарина – в 1,4 раза.

Экстратиреоидные механизмы водного экстракта ламинарии сопровождалась нормализацией содержания метаболитов обмена белков, углеводов, липидов, активностью ферментов, характеризующих функциональное состояние печени, и показателей про/антиоксидантного баланса, которые достоверно изменялись у животных с мерказолил- и перхлоратиндуцированным гипотиреозом. Особенно выраженным отмечено восстановление до уровня ИК и ниже проатерогенных показателей – общего холестерина, ЛПНП и триглицеридов ($p < 0,01$) при действии ВЭЛ.

Для водного экстракта ламинарии установлены антиоксидантные свойства. У животных с экспериментальным гипотиреозом на фоне введения ВЭЛ происходит снижение уровня продуктов прооксидации (ТБК-АП) и восстановление неферментативного и активации ферментативного звена антиоксидантной защиты клеток по уровню восстановленного глутатиона и активности ферментов СОД и каталазы. что приводит, в целом, к снижению риска развития оксидативного стресса. Препарат сравнения Йодомарин по выразительности воздействия на процессы прооксидации превышал эффект ВЭЛ в среднем на 22% и уступал по степени влияния на показатели антиоксидантной защиты.

Токсикологическими исследованиями доказано, что водный экстракт ламинарии относится к VI классу токсичности – относительно безвредные вещества в соответствии с общепринятой классификацией К. К. Сидорова.

Полученные результаты обосновывают перспективность дальнейшего изучения водного экстракта ламинарии как эффективного и безопасного препарата с тиреостимулирующими свойствами.

Ключевые слова: щитовидная железа, тиреоидные гормоны, тиреотропный гормон, экспериментальный гипотиреоз, водный экстракт ламинарии, Йодомарин, тиреостимулирующий эффект, метаболизм, про/антиоксидантные свойства.

SUMMARY

Orlova V. O. Experimental justification of expediency of the use of herbal remedies for pharmaco-correction of hypofunction of thyroid gland. – On the rights of the manuscript.

Thesis for a candidate degree in pharmaceutical sciences by specialty 14.03.05 "Pharmacology". –National University of Pharmacy of Ministry of Healthcare of Ukraine, Kharkiv, 2018.

The dissertation work is devoted to the study of water extracts of laminaria with the purpose of development and creation of a medicinal product for the improvement of the effectiveness of therapy of the thyroid gland diseases, accompanied by hypofunction, or the use as a prophylactic agent at iodine deficiency.

On models of hypothyroidism induced by Mercazolil and sodium perchlorate, the stimulating effect of the aqueous extract of laminaria on the synthesis of T₄ and T₃ hormones (an increase in serum level by 37% and 22%, and 60% and 42% (p<0,05), and reduction of TSH level in 2.3 and 1.6 times, respectively, was established. In studying the effectiveness of the laminaria extract as an additional agent in the treatment of hypothyroidism with L-thyroxine, it was found that with their simultaneous application, there is a more pronounced increase in serum T₃ and T₄ compared with the use of L-thyroxine alone.

Histologic and morphometric studies have shown corrective influence of the aqueous extract of laminaria on the structure of the thyroid gland in rats with hypothyroidism: antiproliferative effect, reduction of the form and number of tyrocytes, decrease of the expressiveness of the current effect of Mercazolilum and sodium perchlorate.

The established non-thyroid mechanisms of action of the aqueous extract of laminaria were accompanied by the normalization of the metabolism parameters of proteins, carbohydrates, lipids, activity of marker enzymes of the liver and pro / antioxidant balance, which varied on the background of the development of experimental hypothyroidism.

Toxicological studies have proved that the aqueous extract of laminaria belongs to the VI class of toxicity - relatively harmless substances according to the classification of K. K. Sidorov.

Key words: thyroid gland, thyroid hormones, thyroid stimulating hormone, experimental hypothyroidism, aqueous extract of laminaria, iodomarine, thyroid stimulating effect, metabolism, antioxidant properties

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

АлАТ	– аланінамінотрансфераза;
АОЗ	– антиоксидантний захист;
АсАТ	– аспартатамінотрансфераза;
БАС	– біологічно активні сполуки;
ВЕЛ	– водний екстракт ламінарії;
ЙД	– йододефіцит;
ЙДЗ	– йододефіцитні захворювання;
ДЙТ	– дийодтирозин;
ДТЗ	– дифузний токсичний зоб;
ЗХЛ	– загальний холестерол
ІК	– інактивний контроль;
І	– йод;
КП	– контрольна патологія;
ЛПВЩ	– ліпопротеїни високої щільності;
ЛПНЩ	– ліпопротеїни низької щільності;
ЛРС	– лікарська рослинна сировина;
МЙТ	– монойодтирозин;
ПОЛ	– перекисне окиснення ліпідів;
СОД	– супероксиддисмутаза;
T ₃	– трийодтиронін;
T ₄	– тироксин;
ТБК-АП	– активні продукти, що реагують з тіобарбітуровою кислотою;
ТГ	– тиреоїдні гормони;
ТТГ	– тиреотропний гормон;
ЩЗ	– щитоподібна залоза.

Підписано до друку 19.12.2018 р. Формат 60x84/16.
Папір офсетний. Гарнітура Times ET. Друк ризографічний.
Ум. друк. арк. 0,9. Наклад 100 пр. Зам. № 1219/4-18.

Надруковано з готового оригінал-макету у друкарні ФОП В. В. Петров
Єдиний державний реєстр юридичних осіб та фізичних осіб-підприємців.
Запис № 24800000000106167 від 08.01.2009 р.
61144, м. Харків, вул. Гв. Широнінців, 79в, к. 137, тел. (057) 78-17-137.
e-mail:bookfabrik@mail.ua