

**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ  
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ**

**факультет фармацевтичний  
кафедра медичної хімії  
кафедра біологічної хімії**

**КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА**

**на тему: «ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ВИВЧЕННЯ БЕЗПЕЧНОСТІ  
ОДНОЧАСНОГО ВИСОКОДОЗОВОГО ЗАСТОСУВАННЯ  
АСКОРБІНОВОЇ КИСЛОТИ ТА ХОЛЕКАЛЬЦИФЕРОЛУ З БОКУ  
ВИДІЛЬНОЇ СИСТЕМИ»**

**Виконала:** здобувачка вищої освіти групи Фс17(5,0д)-07  
спеціальності 226 Фармація, промислова фармація  
освітньої програми Фармація  
Аліна ПОГУЛЯЙ

**Керівники:** доцент закладу вищої освіти кафедри  
медичної хімії, д. фарм. н., доцент  
Ілля ПОДОЛЬСЬКИЙ  
асистент кафедри біологічної хімії, к. біол. н.  
Дмитро ЛИТКІН

**Рецензент:** завідувач кафедри аналітичної хімії та  
аналітичної токсикології, д. фарм. н., професор  
Сергій КОЛІСНИК

**Харків – 2022 рік**

## АНОТАЦІЯ

Експериментально досліджено безпечність одночасного високодозового застосування препаратів, що містять аскорбінову кислоту та кальцифероли, в аспекті порушення обміну та екскреції кальцію, фосфору та сечової кислоти. Одержані результати експериментального дослідження розширюють та поглиблюють знання щодо лікарської взаємодії та фармакобезпеки високодозового одночасного застосування вітамінів С та D (в т.ч. за додаткового нутрієнтного навантаження солями кальцію). Результати дослідження є підґрунтям для ініціації системою фармаконагляду аналізу доцільності клінічного застосування високих доз вітамінів при респіраторних інфекційних захворюваннях та перегляду фактору «користь – шкода».

*Ключові слова:* вітамін С, вітамін D, фармакобезпека, доклінічні дослідження, фармако-токсикологічні аспекти, побічні ефекти.

## ABSTRACT

The safety of concomitant high-dose use of drugs containing ascorbic acid and calciferols in terms of impaired metabolism and excretion of calcium, phosphorus and uric acid has been experimentally investigated. The results of the experimental study expand and deepen the knowledge of drug interactions and pharmacovigilance of high-dose concomitant use of vitamins C and D (including with additional nutrient load of calcium salts). The results of the study are the basis for initiating a system of pharmacovigilance analysis of the feasibility of clinical use of high doses of vitamins in respiratory infectious diseases and review of the factor «benefit – harm».

*Key words:* vitamin C, vitamin D, pharmacovigilance, preclinical studies, pharmaco-toxicological aspects, side effects.

<b>ЗМІСТ</b>	<b>Стор.</b>
<b>ВСТУП.....</b>	<b>6</b>
<b>РОЗДІЛ 1. ДОСВІД ЗАСТОСУВАННЯ ВІТАМІНІВ С ТА D ПРИ COVID-19 ТА ЇХ ФАРМАКО-ТОКСИКОЛОГІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА.....</b>	<b>10</b>
1.1. Досвід застосування вітамінів С та D для профілактики та лікування COVID-19.....	10
1.2. Фармако-токсикологічні аспекти клінічного застосування вітамінів С та D.....	14
Висновки до розділу 1.....	22
<b>РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.....</b>	<b>23</b>
Висновки до розділу 2.....	26
<b>РОЗДІЛ 3. ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ВИВЧЕННЯ БЕЗПЕЧНОСТІ ОДНОЧАСНОГО ВИСОКОДОЗОВОГО ЗАСТОСУВАННЯ АСКОРБІНОВОЇ КИСЛОТИ ТА ХОЛЕКАЛЬЦИФЕРОЛУ З БОКУ ВИДІЛЬНОЇ СИСТЕМИ.....</b>	<b>27</b>
3.1. Вплив комбінованого високодозового застосування вітамінів С та D на клінічні параметри сечі щурів.....	27
3.2 Мікроскопічна оцінка осаду сечі щурів на тлі комбінованого високодозового застосування вітамінів С та D.....	31
3.3. Вплив комбінованого високодозового застосування вітамінів С та D на вміст кальцію, фосфору, креатиніну та сечової кислоти у сироватці крові та сечі щурів.....	37
3.4. Гістоморфологічний аналіз стану нирок щурів на тлі комбінованого високодозового застосування вітамінів С та D.....	45
Висновки до розділу 3.....	49
<b>ЗАГАЛЬНІ ВИСНОВКИ.....</b>	<b>50</b>
<b>СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....</b>	<b>51</b>
<b>ДОДАТКИ.....</b>	<b>59</b>

## ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

SARS-CoV-2	- Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus 2
COVID-19	- COronaVIrus Disease 2019
ГРДС	- Гострий респіраторний дистрес-синдром
SOFA	- Sequential Organ Failure Assessment
ШВЛ	- Штучна вентиляція легень
ACE2	- Ангіотензинперетворювальний фермент 2
G-6-PD	- Глюкозо-6-фосфатдегідрогеназа
ДНК	- Дезоксирибонуклеїнова кислота
<i>in vivo</i>	- Експерименти, що проводяться на живих тканинах і цілих організмах чи всередині них
SOD	- Супероксиддисмутаза
АФК	- Активна форма кисню
GSH	- Глутатіон
ЛПНЩ	- Ліпопротеїни низької щільності
<i>ex vivo</i>	- Події відбулися чи відбуваються в живих тканинах, але поза живого організму
IOM	- Інститут медицини
УЗД	- Ультразвукова діагностика
ПТГ	- Паратиреоїдний гормон
VDT	- Vascular dilatation and tortuosity
QT	- Сегмент електрокардіограми
ST	- Сегмент електрокардіограми
VDR	- Vitamin D receptor
VDBP	- Vitamin D-binding protein
25(OH)D	- 25-гідроксикальциферол (кальцидіол)
24,25(OH) <sub>2</sub> D	- 24,25-дигідроксикальциферол
25,26(OH) <sub>2</sub> D	- 25,26-дигідроксикальциферол

25(OH)D-26,23- лактон	- 25-гідроксикальциферол-26,23-лактон
1,25(OH) <sub>2</sub> D	- 1,25-дигідроксикальциферол
ШКТ	- Шлунково-кишковий тракт
<i>ad libitum</i>	- За бажанням, скільки хочеться
ЄС	- Європейський Союз
ІК	- Група здорових тварин інтактного контролю, що не отримували жодного медикаментозного втручання
АК	- Група тварин, які протягом експерименту отримували вітамін С в дозі 200 мг/кг
D3	- Група тварин, які протягом експерименту отримували вітамін D3 в дозі 1000 МО/кг
Ca/D3	- Група тварин, які протягом експерименту отримували комбінацію вітаміну D3 в дозі 1000 МО/кг та кальцію в дозі 2500 мг/кг
АК+D3	- Група тварин, які протягом експерименту отримували комбінацію вітаміну С в дозі 200 мг/кг та вітаміну D3 в дозі 1000 МО/кг
АК+Ca/D3	- Група тварин, які протягом експерименту отримували комбінацію вітаміну С в дозі 200 мг/кг, вітаміну D3 в дозі 1000 МО/кг та кальцію в дозі 2500 мг/кг
М	- Середнє арифметичне значення
SEM	- Стандартна помилка середнього
ANOVA	- Однофакторний дисперсійний аналіз
HSD-тест	- Honestly significant difference test
МК	- Масовий коефіцієнт

## ВСТУП

**Актуальність теми.** У 2019 році людство стало свідком появи нового важкого гострого респіраторного синдрому коронавірусу (SARS-CoV-2), який викликає коронавірусну хворобу (COVID-19). Спочатку він був виявлений в китайському місті Ухань, а за кілька місяців він поширився на решту світу, перетворившись на глобальну пандемію [1]. На сьогодні зареєстровано понад 360 мільйонів підтверджених випадків COVID-19, у тому числі понад 5,5 мільйонів летальних випадків [2]. На сьогоднішній день вакцини є найкращою терапевтичною зброєю в запобіганні COVID-19 і боротьбі з пандемією. Проте швидкий розвиток варіантів із мутаціями спайкового білка, основної мішені вакцин, що виготовляються на сьогодні, посилив страх перед можливою втратою їх ефективності. Лише лонгітюдні дослідження, проведені на вакцинованих людях, зможуть надати дані про ефективність захисту вакцин від мутантних варіантів вірусу. Таким чином, пошук терапевтичних стратегій, які можуть запобігти зараженню SARS-CoV-2 та пом'якшити перебіг COVID-19, стає все більш важливим, незалежно від варіанта вірусу [3].

З цієї причини також актуальним є пошук факторів, що підвищують ризик зараження SARS-CoV-2 та здатні вплинути на тяжкість COVID-19. Швидко з'ясувалося, що факторами ризику розвитку більш важких клінічних проявів захворювання були вік, чоловіча стать, раса та наявність супутніх захворювань [4–6]. Статус харчування також є одним з факторів, що може суттєво впливати на сприйнятливність до ризику COVID-19 через його невід'ємну роль в імунних процесах організму. У літературі широко описані механізми, якими вітаміни та мікроелементи підтримують імунну функцію слизової оболонки (вітамін А), цілісність епітеліальної тканини (вітаміни А, С та D), підвищуючи функцію певних адаптивних і нативних імунних клітин (вітаміни А, С, D, Е, залізо, цинк і поліненасичені жирні кислоти), та потенційні прооксидантні ефекти (вітамін С) [7].

На сьогодні в структурі багатьох схем терапії та профілактики, що увійшли до складу міжнародних експертних рекомендацій уніфікованих

протоколів надання медичної допомоги у пацієнтів з COVID-19, регламентовано застосування високих, надфізіологічних доз аскорбінової кислоти та кальциферолів (вітамінів С та D). За умов одночасного використання середньотерапевтичних доз вітамінів С та D лікарська взаємодія між ними не є клінічно значущою, але при значному збільшенні дози може стати потенційною причиною певних метаболічних порушень, пов'язаних з обміном і екскрецією кальцію та фосфору, зміни хімічного складу та фізико-хімічних показників сечі, надлишкового утворення неорганічного осаду сечі й, з часом, уролітіазу.

**Мета роботи.** Експериментальне вивчення безпечності одночасного високодозового застосування препаратів, що містять аскорбінову кислоту та кальцифероли (в т.ч. за додаткового нутрієнтного навантаження солями кальцію), в аспекті порушення обміну та екскреції кальцію, фосфору та сечової кислоти.

Для досягнення мети були поставлені наступні *завдання*:

1) Провести аналіз літературних джерел, присвячених клінічному застосуванню вітамінів С та D при інфекційних захворюваннях, зокрема досвіду їх використання для профілактики та лікування пацієнтів з COVID-19, а також фармако-токсикологічним аспектам їх використання.

2) Експериментально дослідити вплив комбінованого високодозового застосування вітамінів С та D (в т.ч. за додаткового нутрієнтного навантаження солями кальцію) на клінічні параметри сечі щурів при визначенні діурезу без водного навантаження.

3) Провести мікроскопічну оцінку осаду сечі щурів на тлі комбінованого високодозового застосування вітамінів С та D (в т.ч. за додаткового нутрієнтного навантаження солями кальцію) при визначенні діурезу без водного навантаження.

4) Експериментально дослідити вплив комбінованого високодозового застосування вітамінів С та D (в т.ч. за додаткового нутрієнтного навантаження солями кальцію) на вміст кальцію, фосфору, креатиніну та сечової кислоти у

сироватці крові та сечі щурів.

5) Провести гістоморфологічний аналіз стану нирок щурів на тлі комбінованого високодозового застосування вітамінів С та D (в т.ч. за додаткового нутрієнтного навантаження солями кальцію).

**Об'єкт дослідження.** Лікарська взаємодія аскорбінової кислоти та холекальциферолу (в т.ч. за додаткового нутрієнтного навантаження солями кальцію) на тлі високодозової терапії.

**Предмет дослідження.** Безпечність комбінованої високодозової терапії аскорбіновою кислотою та холекальциферолом (в т.ч. за додаткового нутрієнтного навантаження солями кальцію).

**Методи дослідження:** фармакологічні, токсикологічні, органолептичні, фізико-хімічні, біохімічні, мікроскопічні, гістоморфологічні, методи математичної статистики.

**Практичне значення отриманих результатів.** Одержані результати експериментального дослідження розширюють та поглиблюють знання щодо лікарської взаємодії та фармакобезпеки високодозового одночасного застосування вітамінів С та D (в т.ч. за додаткового нутрієнтного навантаження солями кальцію). Результати дослідження є підґрунтям для ініціації системою фармаконагляду аналізу доцільності клінічного застосування високих доз вітамінів при респіраторних інфекційних захворюваннях та перегляду фактору «користь – шкода».

**Елементи наукової новизни досліджень.** Вперше в експерименті на тваринах продемонстровано характер лікарської взаємодії аскорбінової кислоти та холекальциферолу (в т.ч. за додаткового нутрієнтного навантаження солями кальцію) при застосуванні в експериментальних еквівалентах доз, які відповідають клінічним, що рекомендовані для фармакотерапії пацієнтів з COVID-19.

**Апробація результатів дослідження і публікації.** Результати дослідження апробовано на секційному засіданні студентського наукового товариства в рамках II Всеукраїнської науково-практичної конференції з



міжнародною участю «YOUTH PHARMACY SCIENCE» (диплом II ступеня).

За темою кваліфікаційної роботи опубліковано 4 тез доповідей:

1. Литкін Д. В., Погуляй А. О., Подольський І. М. Вплив комбінованого високодозового застосування вітамінів С та D на кальцій-креатинінове співвідношення в добовій сечі лабораторних щурів. *Відкриваємо нове сторіччя: здобутки та перспективи: матеріали науковопрактичної конференції з міжнародною участю, присвяченої 100-річчю Національного фармацевтичного університету* : зб. тез доп. міжнар. наук.-практ. конф., м. Харків, 10 вересня 2021 р. Харків: НФаУ, 2021. С. 497–498.

2. Литкін Д. В., Подольський І. М., Погуляй А. О. Вплив надфізіологічних доз аскорбінової кислоти та холекальциферолу окремо та в комбінації на обмін фосфатів у щурів. *Актуальні питання експериментальної та клінічної біохімії: матеріали науково-практичної on-line конференції з міжнародною участю* : матеріали міжнар. наук.-практ. конф., м. Харків, 01 жовтня 2021 р. Харків: НФаУ, 2021. С. 270–271.

3. Pohuliai A. O., Lytkin D. V., Podolsky I. M. The effect of the combined use of vitamins C and D on the microscopic composition of rats' urine. *Youth Pharmacy Science: матеріали II Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю* : матеріали міжнар. наук.-практ. конф., м. Харків, 7-8 грудня 2021 р. Харків: НФаУ, 2021. С. 26–27.

4. Березняк О. О., Погуляй А. О., Литкін Д. В., Галузінська Л. В. Експериментальне обґрунтування розвитку небажаних побічних ефектів при профілактиці коронавірусної хвороби препаратами вітамінів С та D. *Youth Pharmacy Science: матеріали II Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю* : матеріали міжнар. наук.-практ. конф., м. Харків, 7-8 грудня 2021 р. Харків: НФаУ, 2021. С. 252–254.

**Структура та обсяг дипломної роботи.** Кваліфікаційна робота складається зі вступу, 3 розділів, висновків, списку використаних джерел (78 найменувань) та додатків. Загальний обсяг роботи – 50 сторінок. Робота містить 3 таблиці та 21 рисунок.

## **РОЗДІЛ 1. ДОСВІД ЗАСТОСУВАННЯ ВІТАМІНІВ С ТА D ПРИ COVID-19 ТА ЇХ ФАРМАКО-ТОКСИКОЛОГІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА (Огляд літератури)**

### **1.1 Досвід застосування вітамінів С та D для профілактики та лікування COVID-19**

Вважається, що аскорбінова кислота (вітамін С) має сприятливий вплив на COVID-19 через його антиоксидантну дію та роль у зміцненні імунної функції. В основному це відбувається за рахунок підтримки активності лімфоцитів, стимуляції виробництва інтерферону- $\alpha$ , зменшення запалення та покращення функції ендотелію [8–10]. Вітамін С має здатність легко віддавати електрони захищаючи важливі біомолекули, що утворюються в ході нормального клітинного метаболізму, від пошкодження окислювачами. Аскорбінова кислота давно відома як кофактор лізил- та пролілгідроксилаз, необхідних для стабілізації третинної структури колагену, а також кофактор ферментів гідроксилази, що беруть участь у синтезі катехоламінових гормонів. Останні ж дослідження виявили нові ролі вітаміну С у регуляції транскрипції генів та клітинних сигнальних шляхів. Таким чином, вітамін С може модулювати імунну функцію шляхом безпосереднього захисту важливих структурних компонентів клітини або шляхом модуляції чутливих до окислювально-відновного впливу клітинних сигнальних шляхів [8]. Аскорбінова кислота є водорозчинним вітаміном, який, як вважають, має клінічні переваги для пацієнтів із важкими захворюваннями. Антиоксидантні властивості аскорбінової кислоти були оцінені при важких статусах окисного стресу, таких як серйозні інфекції, сепсис та гострий респіраторний дистрес-синдром (ГРДС). Інфекція COVID-19 може призвести до серйозного оксидативного стресу, що призводить до стану, коли пацієнтам може знадобитися більше аскорбінової кислоти. Кілька повідомлень розглядали потенційний вплив аскорбінової кислоти на полегшення запалення та пошкодження судин у важкохворих пацієнтів. Так, було досліджено, що після

інфузії ліпополісахаридів при сепсисі, що був викликаний пошкодженням легень, як аскорбінова кислота, так і дегідроаскорбінова кислота зберегли легеневу структуру та бар'єрну функцію, одночасно послаблюючи експресію прозапальних хемокінів та мікросудинний тромбоз. Аскорбінова кислота та дегідроаскорбінова кислота також нормалізували параметри згортання. Тобто аскорбінова кислота, введена інтервенційно після інфузії ліпополісахаридів, послаблює прозапальні стани прокоагулянтів, які спричиняють пошкодження легневих судин на тваринній моделі сепсису [11, 12]. У світлі запропонованої ефективності, відносної безпеки та низької вартості аскорбінова кислота є привабливим засобом для дослідників і клініцистів для використання в контексті глобальної пандемії охорони здоров'я.

Кілька досліджень дають неоднозначні результати щодо клінічного застосування аскорбінової кислоти у тяжкохворих пацієнтів без COVID-19. У пілотному дослідженні порівнювали внутрішньовенне введення аскорбінової кислоти з групою плацебо у 24 важкохворих пацієнтів із сепсисом. Це дослідження показало, що пацієнти, які отримували аскорбінову кислоту внутрішньовенно, мали нижчі бали послідовної оцінки органної недостатності (SOFA) і нижчі рівні прозапальних маркерів С-реактивного білка і прокальцитоніну, порівняно з групою плацебо. Тромбомодулін у пацієнтів, які отримували аскорбінову кислоту, не показав значного підвищення, що свідчить про послаблення ураження ендотелію судин [13]. Інше рандомізоване контрольоване дослідження, проведене за участю 167 важкохворих пацієнтів із ГРДС, викликаним сепсисом, не виявило різниці в балах SOFA та рівнях маркерів запалення між групами. Проте 28-денна смертність була нижчою в групі лікування [14].

Численні дослідження оцінювали вміст аскорбінової кислоти у важкохворих пацієнтів без COVID-19 [15–18]. Наприклад, результати одного із них показали, що внутрішньовенне введення комбінації аскорбінової кислоти з кортикостероїдами та тіаміном запобігає прогресуванню дисфункції органів, знижує смертність у пацієнтів з септичним шоком, а також може принести

користь пацієнтам з важкою пневмонією [15, 16]. Один метааналіз, який оцінював використання аскорбінової кислоти у пацієнтів відділень інтенсивної терапії без COVID-19, показав, що високі дози внутрішньовенних інфузій аскорбінової кислоти (тобто 200 мг/кг/добу) скорочують тривалість перебування у відділенні інтенсивної терапії на 7,8 %. У ряді контрольованих досліджень було встановлено, що в деяких випадках вітамін С може сприятливо впливати на кров'яний тиск, інфекції, бронхоспазм, фібриляцію передсердь та гостре ураження нирок. Однак практичне значення цих ефектів не зрозуміле [17]. Вітамін С функціонує як потужний водорозчинний антиоксидант, безпосередньо поглинаючи вільні радикали кисню та діючи як важливий ко-фактор для виробництва катехоламінів, вазопресину та кортизолу в організмі людини. Вітамін С також міститься у високій концентрації в лейкоцитах і бере участь у кількох імунних реакціях і функціях. Нещодавня доповідь про дослідження використання високих доз аскорбінової кислоти для внутрішньовенного введення для лікування 50 пацієнтів із захворюванням на COVID-19 середньої та важкої форми показала покращення індексу оксигенації. Більше того, останній метааналіз восьми досліджень із 685 пацієнтів показав, що вітамін С скорочує тривалість ШВЛ у важкохворих пацієнтів [18].

Отже, наявні на теперішній час результати досліджень показують, що для аскорбінової кислоти, безумовно, існують певні терапевтичні точки докладання, впливаючи на які, вона може в деяких випадках покращувати стан пацієнтів з COVID-19. Але в аспекті доказовості це питання потребує подальших досліджень.

Нещодавні обсерваційні дослідження повідомили, що пацієнти з вищим рівнем вітаміну D у сироватці крові мали менш виразні симптоми і навпаки, і постулювали корисність вітаміну D для профілактики та лікування COVID-19. В одному із досліджень було виявлено, що у пацієнтів з дефіцитом вітаміну D значно вищий рівень маркерів запалення у сироватці крові та високий рівень смертності. Рівень вітаміну D помітно низький у важких пацієнтів з COVID-19, а запальна відповідь, у свою чергу, є високою, що і призводить до розвитку

гострого респіраторного дистрес-синдрому та підвищеного рівня смертності у важкохворих пацієнтів, особливо похилого віку та з супутніми хронічними захворюваннями [19–21]. Сприятливий вплив вітаміну D на COVID-19 пояснюється його багатогранною дією на імунну систему.

Відомо, що вітамін D посилює вироблення імунними клітинами різних протимікробних пептидів та модулює імунну систему відповідно до внутрішніх умов та потреб. Він зменшує порушення регуляції продукції прозапальних цитокінів і сприяє експресії протизапальних цитокінів імунними клітинами. Кілька епідеміологічних досліджень пов'язують недостатній рівень вітаміну D з підвищеною схильністю до імуноопосередкованих розладів, включаючи хронічні інфекції та аутоімунні захворювання. Також є припущення, що дефіцит вітаміну D може бути пов'язаний із підвищеним ризиком захворювання COVID-19 [22–24]. Динамічна роль вітаміну D може мати величезне значення в контексті імунної дисфункції, що спостерігається у пацієнтів з COVID-19 з цитокіновим штормом і ГРДС [19, 25].

На додаток до відомих протимікробних і протизапальних ефектів, метаболіти вітаміну D також мають пряму дію на ангіотензин-перетворюючий фермент 2 (ACE2), який служить рецептором для проникнення на поверхню клітин для коронавірусу 2 важкого гострого респіраторного синдрому (SARS-CoV-2). Метаболіти вітаміну D підвищують експресію ACE2 в легневих ендотеліальних клітинах мікросудин на тваринних моделях гострого ураження легень [26]. Хоча посилена експресія ACE2 теоретично може збільшити проникнення вірусу в клітини, це парадоксальним чином може мати сприятливий вплив на пацієнтів, які вже інфіковані, оскільки SARS-CoV-2-опосередковане зниження регуляції ACE2 може посилювати ураження легень [27]. Отже, лікування вітаміном D може знизити ризик захворюваності на COVID-19 за рахунок підвищення рівня ACE2, а також знизити смертність і тяжкість пацієнтів з COVID-19. З цієї причини в нових стратегіях лікування планування збільшення ACE2 може бути успішним для боротьби з інфекцією COVID-19 [25].

Хоча захисні імуномодуючі ефекти вітаміну D були досліджені при багатьох аутоімунних захворюваннях та інфекціях дихальних шляхів, інформації з рандомізованих клінічних досліджень COVID-19 на цей час недостатньо.

## **1.2 Фармако-токсикологічні аспекти клінічного застосування вітамінів С та D**

Вітамін С практично нетоксичний [28–30], однак його великі дози (500 мг/добу і більше) можуть викликати порушення шлунково-кишкового тракту (нудоту, піроз і діарею), посилене сечовиділення з відчуттям печіння, а також гемоліз еритроцитів на тлі дефіциту глюкозо-6-фосфатдегідрогенази (G-6-PD) та вітаміну B<sub>12</sub> [31, 32]. Викликаючи сильне закислення сечі, такі дози погіршують виведення слабких кислот і лугів, що може призвести до осадження цистинатів і уратів у сечовивідних шляхах, що призводить до утворення ниркових конкрементів [33–36]. Останні дослідження також показують, що аскорбат іноді збільшує пошкодження ДНК у людей, проте може впливати на позитивну динаміку у лікуванні раку. Аскорбат є важливим кофактором ферменту, але часто також вважається важливим антиоксидантом *in vivo*, захищаючи від раку шляхом очищення ДНК-пошкоджуючих активних форм кисню. Однак ці функції аскорбінової кислоти ще досить не вивчені та потребують ретельних клінічних випробувань задля встановлення безпеки внутрішньовенної терапії високими дозами вітаміну С, які призводять до ряду побічних ефектів [31, 32].

Побічні ефекти, які виникають при застосуванні великих дозувань вітаміну С, можуть бути пов'язані з підвищеною чутливістю до оксидантного стресу, оскільки вітамін С може бути прооксидантом у дуже високих концентраціях [30]. Дози вітаміну С > 1 г/добу підвищують концентрацію щавлевої кислоти в крові та сечі до ступеня, що збільшує ризик утворення конкрементів оксалату кальцію. Підвищення екскреції кальцію супроводжується зниженням вмісту калію та фосфату. Деякі дослідження

показують, що відносно перенасичення оксалату кальцію збільшувалося під час прийому вітаміну С. Високий відсоток метаболічного перетворення аскорбату в оксалат може викликати відносну гіпероксалурию та кристалурію, причому остання проявляється гематурією. Клініцисти повинні бути попереджені про потенційну небезпеку прийому великих доз вітаміну С деякими особами [36–38]. А саме, такі великі дози не слід вводити при хронічній нирковій недостатності, цистинурії, схильності до подагри, уратного та оксалатного калькульозу.

При терапевтичному застосуванні вітамін С підвищує концентрацію натрію в крові та знижує концентрацію калію, що може призвести до дефіциту останнього [34, 39]. Крім того, він негативно впливає на деякі прийняті ліки, викликаючи руйнування вітаміну В<sub>12</sub> (тому два вітаміни не слід вводити в комбінації), а також посилює виведення похідних амфетаміну та трициклічних антидепресантів, пригнічуючи їх реабсорбцію в ниркових канальцях [33, 50, 41]. Через його хімічну несумісність вітамін С не слід призначати з препаратами, які мають окиснювальні властивості [42]. За підкислення сечі це може призвести до кристалізації виділеної із сечею *n*-аміносаліцилової кислоти та сульфаніламідів [32, 38]. Використання високих доз вітаміну С дає хибні результати аналізів рідини організму із застосуванням методів, заснованих на окисно-відновних реакціях, наприклад, визначення концентрації білірубіну, глюкози або креатиніну, а також активності лактатдегідрогенази або аспартатамінотрансферази [33, 34, 43].

Високі дози вітаміну С перешкоджають всмоктуванню міді та інгібують активність мідьвмісного церулоплазміну та супероксиддисмутази (Cu,Zn-SOD) [34, 44]. Навпаки, вони посилюють всмоктування заліза до шкідливої міри у людей з його надмірним всмоктуванням у кишечнику, а також у осіб із підвищеною концентрацією заліза в крові, гемохроматозом, сидеробластною анемією або таласемією (де симптоми посилюються). Такі дози також можуть призвести до вивільнення цього елемента з його тканинних ресурсів, тобто з феритину [31, 32, 43]. Надлишок незв'язаного заліза накопичується в тканинах

і шкірі, подразнює слизову оболонку шлунково-кишкового тракту, викликає інтоксикацію та сприяє прооксидантній дії вітаміну С. Проте аскорбат підтримує активний центр іонів металів гідроксилаз і оксигеназ у відновленому стані для оптимальної активності ферменту [45, 46]. Прооксидантні ефекти, викликані вітаміном С, можуть виникати в основному через здатність вітаміну відновлювати перехідні іони металів, а до переліку яких, серед іншого, відносяться залізо та мідь. Фактично, відновлені іони металів сприяють утворенню  $\bullet\text{OH}$ , особливо небезпечної для клітин активної форми кисню (АФК), а також  $\text{O}_2\bullet^-$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$  та  $\text{HO}_2\bullet$  [32, 34, 44]. Ці реакції можуть повторюватися циклічно; вони призводять до генерації великих концентрацій згаданих АФК, які стимулюють вільнорадикальні реакції і, як наслідок чинять мутагенну і нейротоксичну дію. Саме тому цей вітамін не слід вживати разом із солями заліза та міді [30, 34, 40]. Однак було виявлено, що вітамін С здатний діяти як прооксидант лише при низьких концентраціях [42, 46]. Вважається, що рівень «вільних» іонів металу дуже низький через їх секвестрацію різними білками, що зв'язують метали, такими як феритин, трансферин та церулоплазмін. Однак під час пошкодження тканини іони металів можуть вивільнятися зі своїх запасів і згодом взаємодіяти з аскорбатом. Вітамін С також діє як косубстрат для ферментів гідроксилази та оксигенази, які беруть участь у біосинтезі проколагену, карнітину та нейромедіаторів. Аскорбінова кислота запобігає шкідливій дії окислювачів, оскільки зменшує активні форми кисню та азоту до стабільних молекул [46, 48]. Аскорбінова кислота може регенерувати інші антиоксиданти з невеликими молекулами, такі як  $\alpha$ -токоферол, глутатіон (GSH), 2-урати і  $\beta$ -каротин, з їх відповідних радикальних видів. Взаємодія аскорбату з  $\alpha$ -токофероксильним радикалом для регенерації  $\alpha$ -токоферолу переміщує радикали з ліпідної фази у водну фазу і, отже, запобігає опосередкованому токоферолом перекисному окисненню. Було показано, що аскорбат зберігає GSH в умовах підвищеного окисного стресу *in vivo*.



Негативні ефекти вітаміну С можуть виявитися при селективному застосуванні вітаміну для профілактики захворювань, опосередкованих перекисним окисненням ліпідів. Вищезазначений вітамін запобігає цьому процесу, особливо щодо ліпопротеїнів ЛПНЩ, але також розкладає раніше утворені пероксили ліпідів до більш реакційноздатних 8- та 10-вуглецевих альдегідів [47]. Вітамін С захищає ізольовані ЛПНЩ від окислення багатьма різними типами окисного стресу, включаючи незалежні та залежні від іонів металу процеси [46]. Утворенню перекису ліпідів запобігає вітамін Е, який перериває каталізовані вільними радикалами перекисні ланцюгові реакції. Тому одночасне використання вітамінів С і Е має не тільки значення для їх спільної дії в ліпідному середовищі, але й унеможливорює перебіг вищезгаданого процесу.

Існують припущення щодо захисної ролі антиоксидантів у пацієнтів з раком. Дані епідеміологічні дані призвели до думки, що дієтичні добавки з антиоксидантами (а саме з вітаміном С) можуть бути корисними при лікуванні онкологічних захворювань. Проте вітамін С виявився неефективним у дослідженнях хіміопрофілактики раку. Таку недостатню ефективність можна пояснити утворенням вітаміном С генотоксинів з гідропероксидів ліпідів за відсутності іонів перехідних металів [47].

Багато досліджень вивчали залежність окиснювального пошкодження ДНК від вітаміну С. Одне з таких досліджень показало, що незважаючи на значне підвищення концентрації аскорбінової кислоти у плазмі крові, вітамін С не мав впливу на окиснювальне пошкодження ДНК як із застосуванням перекису водню *ex vivo*, так і без нього. На противагу цьому, два інших дослідження продемонстрували зменшення розриву ланцюгів у лімфоцитів людей, які отримували вітамін С після впливу перекису водню або іонізуючого випромінювання *ex vivo*. Отже, результати різних досліджень досить невизначені та потребують додаткового вивчення [46].

Прийом великих доз вітаміну С може призвести до толерантності до вітаміну С або навіть до залежності (включаючи опосередкований вплив на плід

у вагітної жінки). Раптова відміна таких доз може призвести до симптомів дефіциту, включаючи цингу; отже, дози необхідно знижувати поступово, щоб організм міг пристосуватися до змін [33, 39, 43]. Крім того, вітамін С має незначну психостимулювальну дію, тому його нічний прийом не рекомендується [31, 37].

Цілий ряд побічних ефектів викликає окиснена форма вітаміну С (утворюється у високих концентраціях, коли відновлена форма цього вітаміну інтенсивно витрачається, залежно від окисного стресу) [42, 44, 48]. Це може призвести до пригнічення транспорту різних речовин і порушення деяких метаболічних процесів. Це пов'язано з його реакціями з SH-групами ферментів (наприклад, присутні в гексокіназі, ключовому ферменті метаболізму глюкози) та з іншими білками [32, 49]. Окиснена форма вітаміну С також здатна пошкоджувати еритроцити (що призводить до гемолізу) і  $\beta$ -клітини підшлункової залози, подібно до алоксану, добре відомого завдяки цій здатності [32, 34, 38].

Таким чином, оскільки вітамін С є водорозчинним вітаміном, то при його надмірному вживанні не спостерігається станів подібних до істотних гіпервітамінозів, проте розвиваються загальнотоксичні ефекти пов'язані в першу чергу з його біотрансформацією та підвищеною екскрецією з сечею. Загальновідомим є той факт, що на тлі тривалого вживання вітаміну С у надфізіологічних дозах спостерігається підкислення рН сечі, а також посилення утворення конкрементів сечі, зокрема кристалів оксалатів та оксалоацетатів кальцію. Причиною цього явища може бути не лише досягнення оптимального значення рН для кристалоутворення зазначених уралітів, а й особливості метаболізму аскорбінової кислоти, в ході якого утворюється певна кількість оксалату. Особливо уважним необхідно бути пацієнтам з рецидивуючими захворюваннями сечовидільної системи. В одному дослідженні вітамін С застосовувався у пацієнтів із рецидивуючою сечокам'яною хворобою та лужною сечею, що призводило до значного зниження рН сечі. До значного зниження рН сечі також призводило вживання

аскорбінової кислоти під час антибактеріальної терапії. Це пояснюється знищенням бактерій, що продукують уреазу, антибактеріальним агентом. Ще одне дослідження показало, що вживання вітаміну С у пацієнтів з кальцієвими каменями призвело до значної гіпероксалурії після перорального прийому 1 г/добу та 2 г/добу аскорбінової кислоти. [50].

Токсична доза вітаміну D не встановлена. У звіті Інституту медицини (ІОМ) було зроблено висновок, що дози нижче 10000 МО/добу зазвичай не пов'язані з токсичністю, тоді як дози, рівні або вище 50000 МО/добу протягом кількох тижнів або місяців, часто асоціюються з токсичними побічними ефектами, включаючи задокументовану гіперкальціємію [51]. Проводилось дослідження на дітях віком від 20 днів до 10 місяців, які з народження отримували рекомендоване в своїй країні дозування вітаміну D. Найбільш частими клінічними симптомами були відсутність розвитку та поліурія. УЗД нирок показало медулярний нефрокальциноз у всіх немовлят. Ретроспективний аналіз лабораторних даних на момент початкового прояву виявив гіперкальціємію та пригнічений рівень інтактного паратиреоїдного гормону (ПТГ). Ретельна оцінка метаболізму фосфатів виявила гіпофосфатемію. Тому пацієнтам було введено у раціон дієту з низькою кількістю кальцію (яка мала досить низьку ефективність, так як прояви гіперкальціємії швидко повертались), а згодом і пероральне введення фосфатів. Проте більшість повідомлень про токсичність вітаміну D містять дані про споживання понад 40000 МО/добу [52].

Клінічні прояви токсичності вітаміну D (VDT) різноманітні, але пов'язані насамперед з гіперкальціємією. Гіперкальціємія зустрічається у 4% населення у зв'язку із злоякісними новоутвореннями, первинним гіперпаратиреозом, надлишковим споживанням кальцію та/або вітаміну D, позаматковим виробленням  $1,25(\text{OH})_2\text{D}$  та порушенням деградації [53, 54]. Симптоми можуть бути подібними до симптомів інших гіперкальціємічних станів і включати нейропсихічні прояви, такі як труднощі з концентрацією, сплутаність свідомості, апатія, сонливість, депресія, психоз, а в крайніх

випадках — ступор і кома. Шлунково-кишкові симптоми VDT включають повторювану блювоту, біль у животі, полідипсію, анорексію, запор, пептичні виразки та панкреатит. Серцево-судинні прояви VDT включають артеріальну гіпертензію, укорочений інтервал QT, підйом сегмента ST і брадиаритмії з блокадою серця першого ступеня на електрокардіограмі. Ниркові симптоми включають гіперкальціурію як найпершу ознаку, поліурію, полідипсію, зневоднення, нефрокальциноз та ниркову недостатність. Інші симптоми VDT, спричинені гіперкальціємією, включають смугову кератопатію, втрату слуху та периартикулярний кальциноз [55, 56].

Лабораторні дані, крім гіперкальціємії, включають гіперфосфатемію та пригнічену концентрацію ПТГ у сироватці крові. Наявність гіперфосфатемії також є ознакою наявності гіпервітамінозу D. Вона виникає в результаті збільшення всмоктування фосфатів у кишечнику та нирках. Осмоляльність сечі може бути низькою через порушення концентрації нирок, що виникає в результаті резистентності до впливу антидіуретичного. При рентгенологічному дослідженні нирок часто спостерігається підвищення рівня креатиніну та азоту сечовини крові, а також нефрокальциноз [53].

VDT, що виникає внаслідок надмірного вживання вітаміну D, характеризується гіперкальціурією, гіперкальціємією, підвищенням  $25(\text{OH})\text{D} > 150 \text{ нг/мл}$  ( $> 375 \text{ нмоль/л}$ ), і зазвичай нормальною або дещо підвищеною концентрацією  $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ .

На цей час існує три основні гіпотези про механізм розвитку VDT [57]. Усі три пов'язані з підвищенням концентрації метаболіту вітаміну D, що досягає рецептора вітаміну D (VDR) в ядрі клітин-мішеней і викликає надмірну експресію генів. Три гіпотези для пояснення VDT є такими:

1. Токсичність опосередковується підвищенням концентрації активної гормональної форми  $1,25(\text{OH})_2\text{D}$  в сироватці крові, що призводить до підвищення її внутрішньоклітинної концентрації. Ця гіпотеза не має сильної підтримки. Лише в одному дослідженні повідомляється про підвищені значення концентрації  $1,25(\text{OH})_2\text{D}$  при VDT [58]. Багато інших досліджень

показали, що концентрації  $1,25(\text{OH})_2\text{D}$  були нормальними або лише незначно підвищеними.

2.  $1,25(\text{OH})_2\text{D}$  має низьку спорідненість до білка, що зв'язує вітамін D (VDBP) [59] і високу спорідненість до VDR, що робить його важливим лігандом з доступом до механізму трансдукції транскрипційного сигналу. При гіпервітамінозі D концентрації різних метаболітів вітаміну D, особливо  $25(\text{OH})\text{D}$ , помітно збільшуються, що насичує зв'язуючу здатність VDBP і, у свою чергу, дозволяє іншим метаболітам вітаміну D потрапляти в ядро клітини. Серед різних метаболітів вітаміну D  $25(\text{OH})\text{D}$  у вищих концентраціях (дозозалежний ефект) має найвищий афінитет до VDR, тому конкретний метаболіт у його високих концентраціях у сироватці сам по собі стимулює транскрипцію [59, 60].

3. Споживання вітаміну D підвищує концентрацію самого вітаміну D і збільшує концентрацію багатьох інших метаболітів вітаміну D, особливо  $25(\text{OH})\text{D}$ . При гіпервітамінозі D концентрації метаболітів вітаміну D, таких як вітамін D,  $25(\text{OH})\text{D}$ ,  $24,25(\text{OH})_2\text{D}$ ,  $25,26(\text{OH})_2\text{D}$  та  $25(\text{OH})\text{D}$ -26,23-лактон, значно збільшуються [61]. Аномально підвищені концентрації метаболітів вітаміну D перевищують здатність зв'язування VDBP і викликають вивільнення вільного  $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ ; останній активний метаболіт проникає в клітини-мішені шляхом дифузії та діє через VDR.

З цих трьох гіпотез аномально високі концентрації  $25(\text{OH})\text{D}$  і вільного  $1,25(\text{OH})_2\text{D}$  є найбільш достовірними, хоча навіть ця концепція залишається недоведеною [57, 61].

Отже, активні гормональні форми вітаміну D регулюють обмін кальцію та фосфатів в організмі. Кальцитріол сприяє посиленню вивільненню кальцію з кісткових депо в кров, однак разом з цим збільшує абсорбцію кальцію в ШКТ та посилює реабсорбцію кальцію в ниркових каналцях. При гіпервітамінозі вітаміну D депонується в тканинах організму та призводить до підвищення вмісту кальцію в крові та первинній сечі, що з часом може

призвести до петрифікацій та кальцифікації в різних органах та системах, зокрема тих, де перебігають патологічні процеси [62].

### **Висновки до розділу 1**

1. У літературних джерелах широко обґрунтована потенційна можливість застосування вітамінів С та D для зниження сприйнятливості людини до інфекції, прогресування симптомів та ймовірності тяжкого захворювання. Але доказова база щодо клінічного застосування недостатня.

2. Аналіз літературних джерел показав, що аскорбінова кислота та кальцифероли є практично нетоксичними речовинами, проте за високодозового тривалого застосування можуть виявляти значні небажані ефекти, особливо щодо сечовидільної системи.

3. Літературних даних щодо експериментального вивчення впливу одночасного високодозового застосування вітамінів С та D (в т.ч. за додаткового нутрієнтного навантаження солями кальцію) на сечовидільну систему не зустрічаються.

## РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Експериментальне дослідження проводилося на 36 білих аутбредних щурах самцях віком 5 місяців масою  $270 \pm 20$  г. Піддослідні тварини утримувалися в умовах віварію Навчально-наукової тренінгової лабораторії медико-біологічних досліджень Навчально-наукового інституту прикладної фармації Національного фармацевтичного університету відповідно до санітарно-гігієнічних норм в рекомендованих умовах для даного виду тварин. Тварини перебували в окремих поліпропіленових клітинах у кімнаті з природним світловим режимом «день-ніч» при температурі  $19-24^{\circ}\text{C}$  й вологості не більше 60 %. Тварини отримували стандартний харчовий раціон та питну воду *ad libitum* [63, 64].

Дослідження проводився з дотриманням принципів Директиви 2010/63/EU Ради ЄС «Про охорону тварин, використовуваних з науковою метою» (Брюссель, 2010) та «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах» (Київ, 2001), що узгоджені з «Європейською конвенцією про захист хребетних тварин, що використовуються для експериментальної та іншої наукової мети» (Страсбург, 1985) та Етичним Кодексом Всесвітньої Медичної асоціації (Гельсінкі, 1964) [65, 66].

Після отримання тварин зважували, маркували за порядковим номером. В дослідження включали тільки здорових тварини. Рандомізацію по групах проводили методом мінімізації різниці по масі. Тварин розподіляли на 6 груп по 6 тварин у кожній, згідно дизайну дослідження [67].

Експериментальні групи формували наступним шляхом:

- Група ІК – група здорових тварин інтактного контролю, що не отримували жодного медикаментозного втручання;
- Група АК – група тварин, які протягом експерименту отримували вітамін С в дозі 200 мг/кг;
- Група D3 – група тварин, які протягом експерименту отримували вітамін D<sub>3</sub> в дозі 1000 МО/кг;

- Група Ca/D3 – група тварин, які протягом експерименту отримували комбінацію вітаміну D<sub>3</sub> в дозі 1000 МО/кг та кальцію в дозі 2500 мг/кг;
- Група AK+D3 – група тварин, які протягом експерименту отримували комбінацію вітаміну С в дозі 200 мг/кг та вітаміну D<sub>3</sub> в дозі 1000 МО/кг;
- Група AK+Ca/D3 – група тварин, які протягом експерименту отримували комбінацію вітаміну С в дозі 200 мг/кг, вітаміну D<sub>3</sub> в дозі 1000 МО/кг та кальцію в дозі 2500 мг/кг.

Як об'єкти дослідження були використані лікарські засоби, зареєстровані на території України:

- Вітамін С («ВІТАМІН С 500», таблетки жувальні по 500 мг, по 10 таблеток у блістері, по 1 блістери у коробці, ТОВ «Фармацевтична компанія «Здоров'я», Україна, № UA/5358/01/01).
- Вітамін D<sub>3</sub> («Д3 КРАПЕЛЬКА», краплі оральні 4000 МО/мл у флаконі-крапельниці 10 мл у коробці, № 1, ТОВ «Тева Оперейшнз Поланд», Польща, № UA/1487/01/01).
- Вітамін D<sub>3</sub> з кальцієм («КАЛЬЦІЙ-Д3 НІКОМЕД з апельсиновим смаком», таблетки жувальні у флаконі, № 100, 1 флакон в упаковці, ТОВ «Такеда АС», Норвегія, № UA/3541/01/01).

Досліджувані лікарські засоби та їх комбінації вводили внутрішньошлунково за допомогою інтрагастрального зонду о 9.00-9.30 натщесерце щодоби протягом 14 діб. Добові дози препаратів еквівалентні для тварин із урахуванням рекомендованих добових доз для людини, що були висвітлені в клінічних дослідженнях та протоколах надання медичної допомоги з лікування та профілактики коронавірусної хвороби [68–72], а також міжвидової різниці маси та площі поверхні тіла [73].

Останнє введення тест-зразків було розраховано таким чином, щоб кожна тварина отримала однакову пропорційну кількість розчинника на 100 г маси тіла. При цьому тварини не отримували додаткового водного навантаження, оскільки



одним з завдань було дослідити мікроскопію осаду сечі, а додаткова рідина могла б вплинути на вираженість ознак уролітіазу. Після останнього ведення тварин поміщали в метаболічні клітини для збирання добової сечі. Згідно останніх рекомендацій з біоетики тривалість знаходження тварин в метаболічних клітинах становила 16 годин [74, 75]. Зі зразків сечі готували мікропрепарати. Кожний мікропрепарат досліджували під мікроскопом при збільшенні  $400\times$  в 20 полях зору.

Після дослідження діурезу тварин піддавали евтаназії в  $\text{CO}_2$  боксі, кров відбирали для отримання сироватки, нирки вилучали для подальших гістологічних досліджень.

Визначення показника рН сечі проводили за допомогою рН-метру рН-150 МИ (ТОВ «Спектро Лаб», РФ) з встановленим контактним електродом для біологічних рідин. Визначення загального білка в сечі експериментальних тварин (HP010.02), а також вмісту кальцію (HP013.01), фосфору (HP023.01), креатиніну (HP014.01), сечової кислоти (HP017.02) в крові та сечі проводили з використанням стандартних комерційних наборів виробництва ТОВ НВП «Філісіт-Діагностика» (Україна). Вміст всіх зазначених речовин визначали фотометрично на напівавтоматичному біохімічному аналізаторі MapLab plus (BSI, Італія).

Зразки нирок (поперековий розріз через нирковий сосочок) фіксували у 10 % розчині формаліну, зневоднювали у спиртах зростаючої міцності, заливали у парафін. Зрізи з парафінових блоків отримували на санному мікротомі, монтували на предметне скло, фарбували гематоксиліном та еозином. Мікроскопічне вивчення мікропрепаратів проводили під світловим мікроскопом Granum, мікрофотографування мікроскопічних зображень здійснювали цифровою відеокамерою Granum DCM 310. Фотознімки обробляли на комп'ютері Pentium 2,4 GHz за допомогою програми Tour View [76].

Статистичну обробку результатів починали з застосування методів описової статистики (критерій Шапіро-Уїлка). За умов нормального характеру розподілу вибірок результат виражали у вигляді середнього арифметичного значення (M) та стандартної помилки середнього (SEM). Для

подальшого порівняння вибірок використовували параметричні апріорні (однофакторний дисперсійний аналіз ANOVA) й апостеріорні (HSD-тест Тьюкі) методи аналізу. Відмінності вважали вірогідними за рівнем значущості  $P < 0,05$ . Статистична обробка проведена із використанням базового пакету програм MS Excel 2019 та IBM SPSS Statistics 22 [77, 78].

### **Висновки до розділу 2**

1. Наведено алгоритм формування експериментальних груп тварин, підготовку до експерименту та метод рандомізації тварин.
2. Наведено матеріали та методи дослідження, застосованих в експерименті вивчення безпечності високодозового застосування аскорбінової кислоти та холекальциферолу.

### РОЗДІЛ 3. ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ВИВЧЕННЯ БЕЗПЕЧНОСТІ ОДНОЧАСНОГО ВИСОКОДОЗОВОГО ЗАСТОСУВАННЯ АСКОРБІНОВОЇ КИСЛОТИ ТА ХОЛЕКАЛЬЦИФЕРОЛУ З БОКУ ВИДІЛЬНОЇ СИСТЕМИ

#### 3.1 Вплив комбінованого високодозового застосування вітамінів С та D на клінічні параметри сечі щурів

При дослідженні впливу комбінованого високодозового застосування вітамінів С та D на клінічні параметри сечі щурів вивчали зразки, зібрані у тварин усіх досліджуваних груп протягом 16 годин після 14-денного курсового введення тест-зразків за допомогою спеціальних метаболічних кліток без водного навантаження. Показниками функціонального стану сечовидільної системи щурів були обрані добовий діурез та рН сечі, масовий коефіцієнт нирок та загальний вміст білку. Одержані результати наведено в табл. 3.1.

*Таблиця 3.1*

**Параметри функціонального стану сечовидільної системи щурів**

Індекс групи	Група	Добовий діурез (16 год), мл/100 г	МК нирок, г/100 г	рН сечі	Загальний білок сечі, мг/л
<b>A</b>	<b>ІК</b>	1.388±0.209	0.640±0.044	7.767±0.134	157.333±8.202
<b>B</b>	<b>АК</b>	1.428±0.106	0.645±0.018	6.987±0.165 <sup>a</sup>	160.952±11.296
<b>C</b>	<b>D3</b>	1.229±0.098	0.606±0.028	7.595±0.057 <sup>b</sup>	153.714±10.837
<b>D</b>	<b>Ca/D3</b>	1.277±0.125	0.662±0.034	8.125±0.088 <sup>b</sup>	142.095±9.870
<b>E</b>	<b>АК+D3</b>	1.472±0.094	0.633±0.039	7.192±0.139 <sup>a, d</sup>	165.143±9.905
<b>F</b>	<b>АК+Ca/D3</b>	1.516±0.069	0.693±0.023	7.352±0.160 <sup>d</sup>	184.762±12.501

Примітки:

- <sup>a</sup> – відмінності достовірні відносно групи **ІК**, Tukey HSD test,  $p < 0,05$ ;
- <sup>b</sup> – відмінності достовірні відносно групи **АК**, Tukey HSD test,  $p < 0,05$ ;
- <sup>c</sup> – відмінності достовірні відносно групи **D3**, Tukey HSD test,  $p < 0,05$ ;
- <sup>d</sup> – відмінності достовірні відносно групи **Ca/D3**, Tukey HSD test,  $p < 0,05$ ;
- <sup>e</sup> – відмінності достовірні відносно групи **АК+D3**, Tukey HSD test,  $p < 0,05$ .

Прямого токсичного впливу досліджуваних тест-зразків на сечовидільну систему не відмічалось. Репрезентовані результати свідчать, що застосування тест-зразків майже не впливало на показники добового діурезу щурів. Не зважаючи на відсутність достовірних відмінностей, слід відмітити певне зниження добового діурезу (до 12 %) на тлі застосування холекальциферолу та його комбінації з солями кальцію (рис. 3.1). При цьому тест-зразки, що містять аскорбінову кислоти, навпаки, недостовірно дещо збільшували його. Суттєвого впливу на масові коефіцієнти нирок (рис. 3.2) та вміст білку в сечі (рис. 3.3) також не спостерігали.

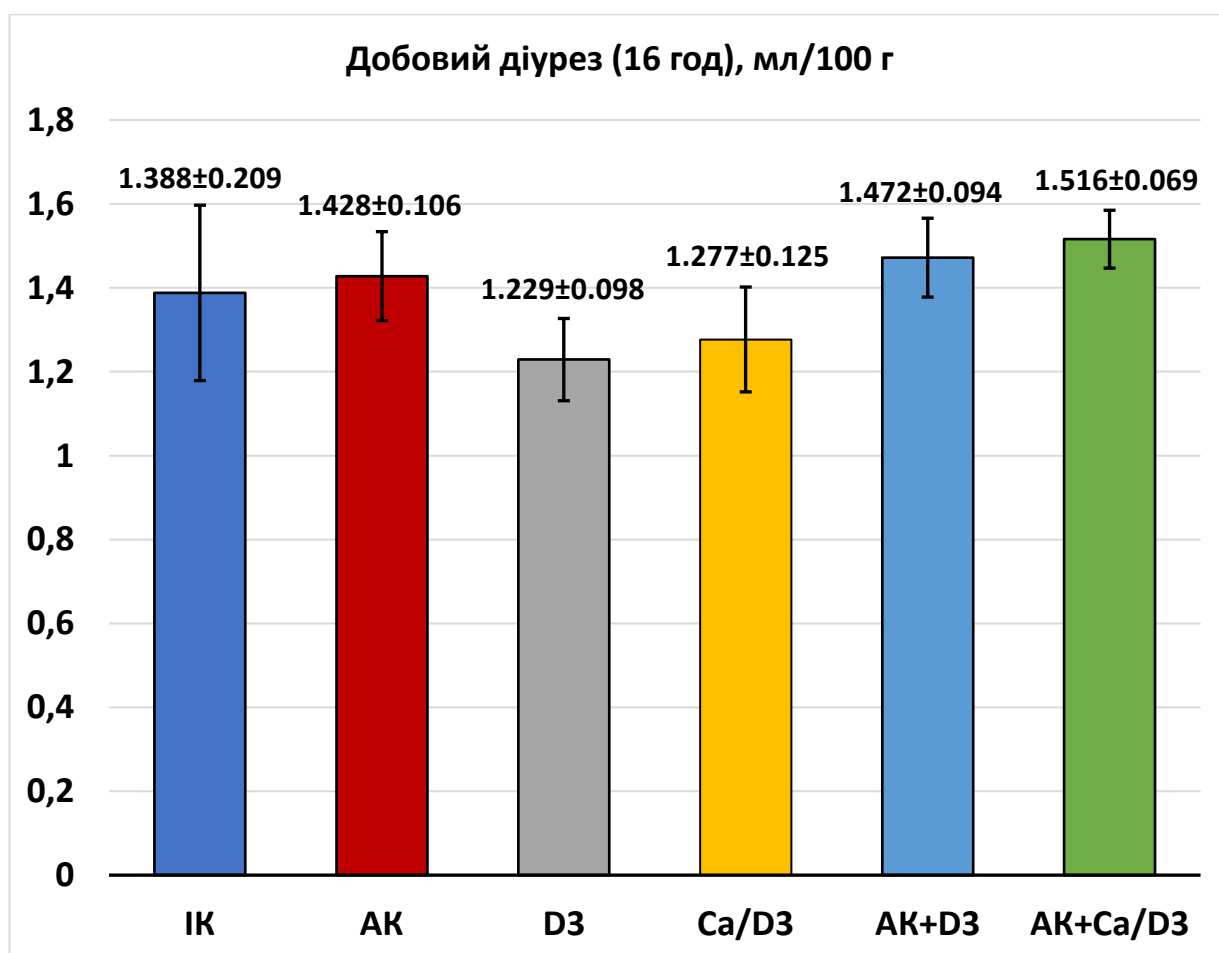


Рис. 3.1 Добовий діурез щурів експериментальних груп

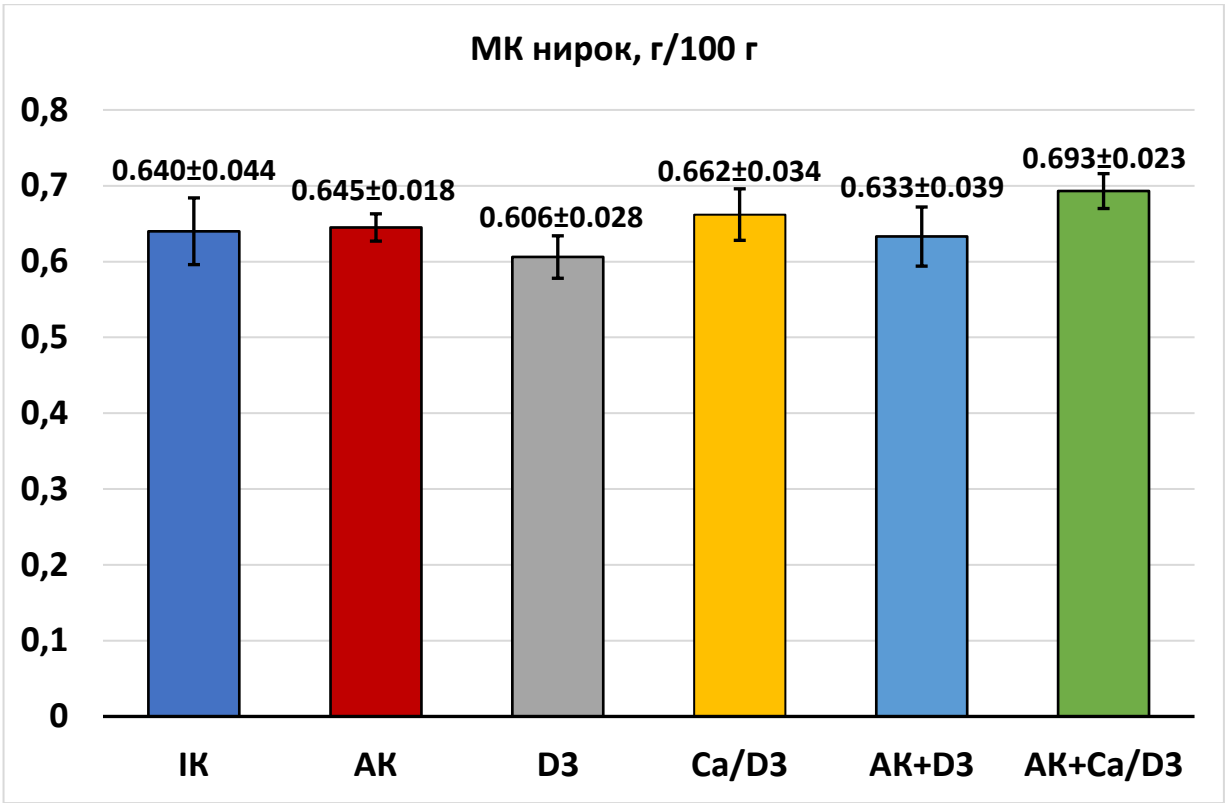


Рис. 3.2 Масовий коефіцієнт нирок щурів експериментальних груп

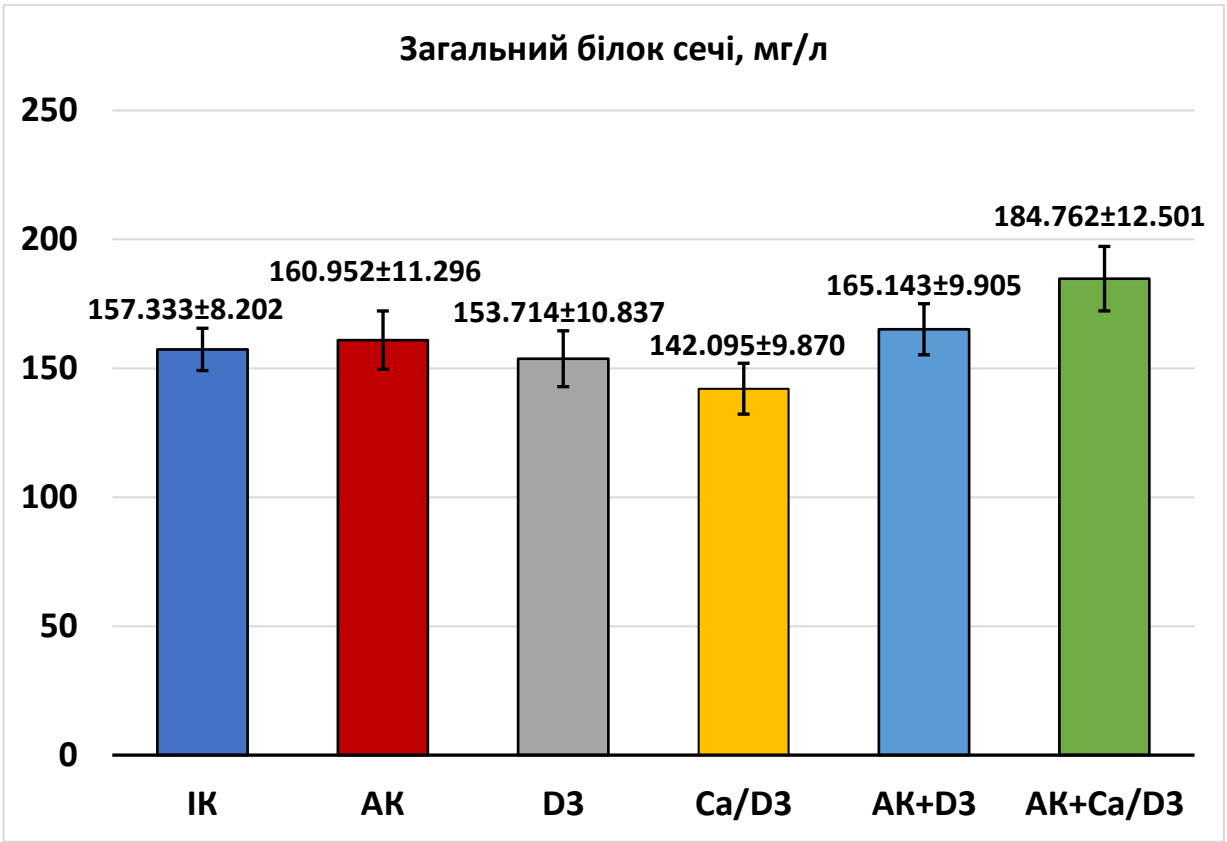


Рис. 3.3 Загальний білок сечі щурів експериментальних груп

Щодо змін рН сечі на тлі застосування різних тест-зразків (табл. 3.1), то слід відмітити цілу низку суттєвих особливостей. Цілком очікувано, що показник рН сечі групи АК знижувався майже на 0,8 ( $p<0,05$ ) порівняно з групою ІК та достовірно відрізнявся від таких у групах D3 та Ca/D3. Показник групи Ca/D3 мав найвище значення серед усіх експериментальних груп. На тлі застосування комбінацій холекальциферолу з аскорбіновою кислотою (група АК+D3) рН сечі щурів достовірно знижувався порівняно з ІК та Ca/D3. При цьому, зазначена комбінація за додаткового нутрієнтного навантаження солями кальцію не так суттєво впливала на показник рН сечі, що віддзеркалювалось у відсутності достовірних відмінностей порівняно з групою ІК при збереженні статистичної значущості відносно найбільш лужного показника групи Ca/D3 (рис. 3.4).

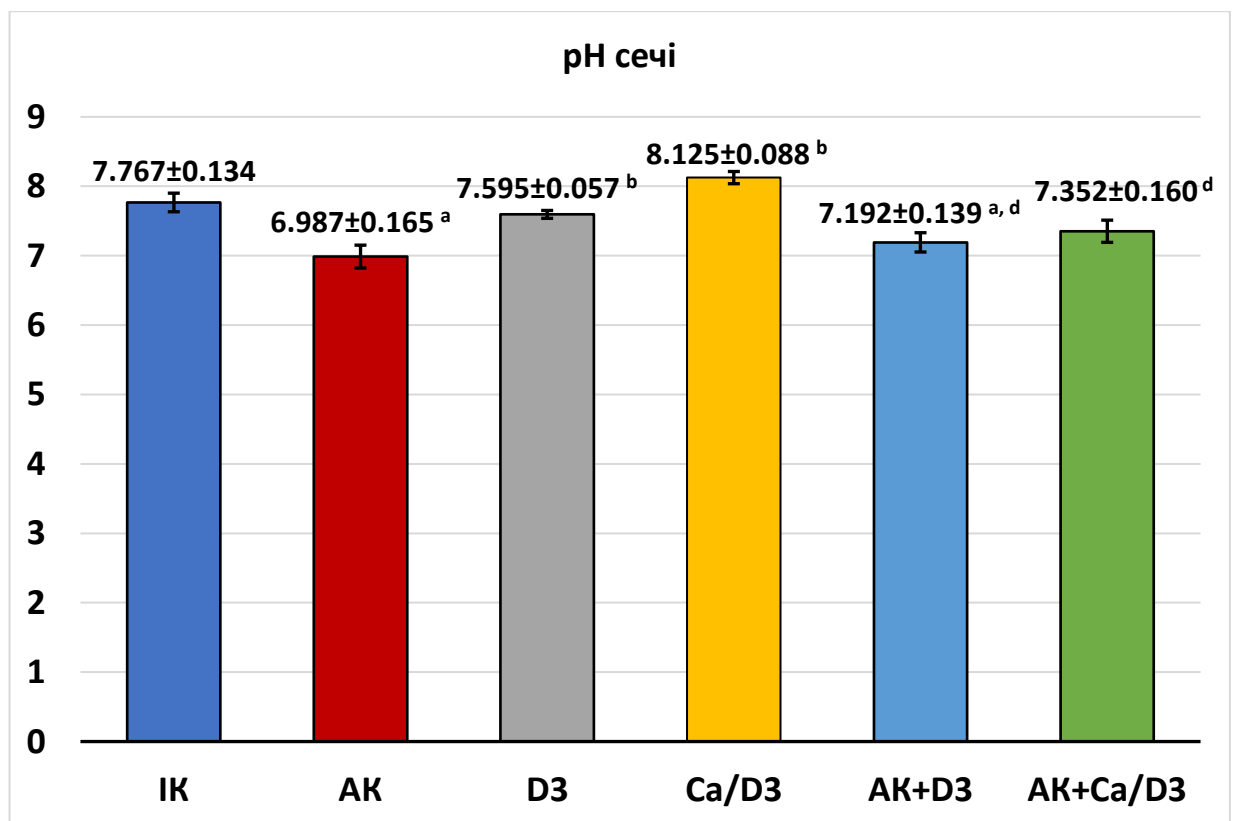


Рис. 3.4 рН сечі щурів експериментальних груп

Примітки:

- <sup>a</sup> – відмінності достовірні відносно групи **ІК**, Tukey HSD test,  $p<0,05$ ;
- <sup>b</sup> – відмінності достовірні відносно групи **АК**, Tukey HSD test,  $p<0,05$ ;
- <sup>d</sup> – відмінності достовірні відносно групи **Ca/D3**, Tukey HSD test,  $p<0,05$ .

Основними висновками з вищевикладеного можуть бути такі:

- 1) аскорбінова кислота у високих дозах достовірно знижує показник рН сечі щурів, що, з одного боку, є цілком очікуваним зважаючи на її хімічну природу, проте є предиктором підвищення ризику кристалізації певних хімічних компонентів сечі;
- 2) додаткове нутрієнтне навантаження солями кальцію у групах, що одержували різні комбінації високих доз холекальциферолу та аскорбінової кислоти призводить до підвищення рН сечі, що може певним чином збалансовувати вплив аскорбінової кислоти.

### **3.2 Мікроскопічна оцінка осаду сечі щурів на тлі комбінованого високодозового застосування вітамінів С та D**

Для мікроскопічної оцінки осаду сечі щурів на тлі комбінованого високодозового застосування вітамінів С та D (в т.ч. за додаткового нутрієнтного навантаження солями кальцію) використовували осад, одержаний з відібраних зразків сечі (див. підрозділ 3.1).

Мікроскопію проводили за робочого збільшення  $\times 400$ , у полі зору підраховували кількість кристалітів (рис. 3.5), типували їх та визначали середній показник для кожного типу в 20 полях зору (табл. 3.2).

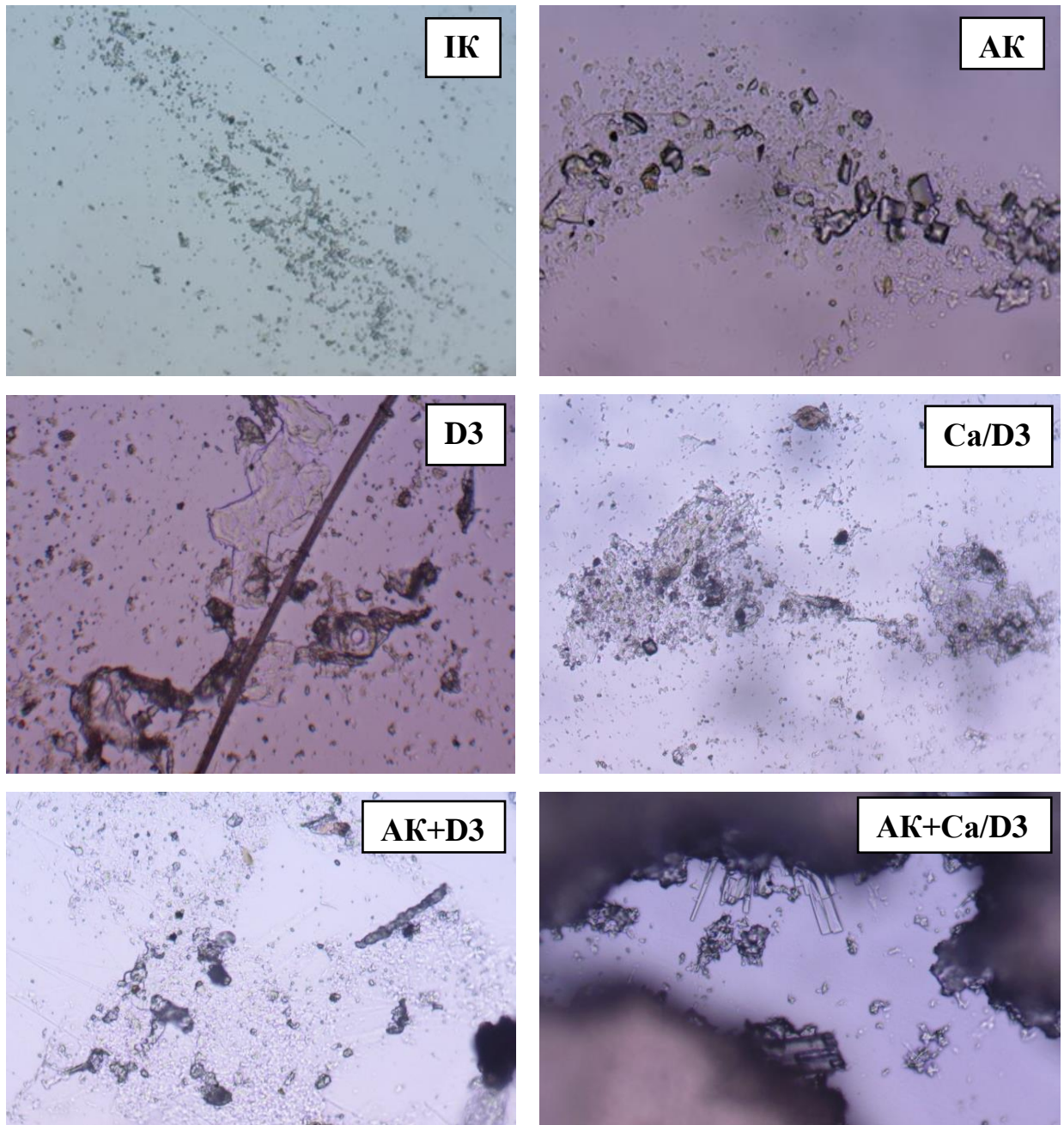


Рис. 3.5 Мікроскопія осаду сечі щурів на тлі комбінованого високодозового застосування вітамінів С та D. Збільшення  $\times 400$

Примітки:

Група ІК – група здорових тварин інтактного контролю, що не отримували жодного медикаментозного втручання;

Група АК – група тварин, які протягом експерименту отримували вітамін С в дозі 200 мг/кг;

Група D3 – група тварин, які протягом експерименту отримували вітамін D<sub>3</sub> в дозі 1000 МО/кг;



Група Ca/D3 – група тварин, які протягом експерименту отримували комбінацію вітаміну D<sub>3</sub> в дозі 1000 МО/кг та кальцію в дозі 2500 мг/кг;

Група АК+D3 – група тварин, які протягом експерименту отримували комбінацію вітаміну С в дозі 200 мг/кг та вітаміну D<sub>3</sub> в дозі 1000 МО/кг;

Група АК+Ca/D3 – група тварин, які протягом експерименту отримували комбінацію вітаміну С в дозі 200 мг/кг, вітаміну D<sub>3</sub> в дозі 1000 МО/кг та кальцію в дозі 2500 мг/кг.

Досліджувані поля зору інтактних тварин здебільшого були чистими. В осаді сечі щурів групи ІК (рис. 3.6, табл. 3.2) спостерігались поодинокі кристали оксалату кальцію, уратів (близько 3 у полі зору), нейтральних фосфатів кальцію (близько 2 у полі зору) та аморфних фосфатів (близько 2 у полі зору). Застосування усіх тест-зразків значно змінювало якісний та кількісний склад осаду сечі.

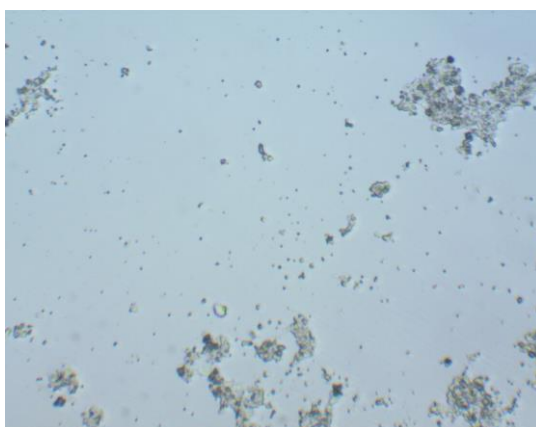


Рис. 3.6 Мікроскопія осаду сечі щурів групи ІК. Збільшення  $\times 400$

Так, в осаді сечі щурів групи АК (рис. 3.7, табл. 3.2) кількість кристалітів оксалатів кальцію у полі зору достовірно збільшилася порівняно з ІК майже у 15 разів, уратів – у 2,7 разу, нейтральних фосфатів кальцію – майже у 2,3 разу. Також на відміну від ІК зустрічались поодинокі кристали сечової кислоти.

Таблиця 3.2

Підрахування кристалітів в осаді сечі щурів (в полі зору),  $M \pm SEM$ 

Група	Оксалат кальцію	Урати	Сечова кислота	Нейтральний фосфат кальцію	Аморфні фосфати	Трипельфосфати
<b>ІК</b>	0.167±0.167	2.833±0.477	0.000±0.000	2.000±0.365	2.000±0.516	0.000±0.000
<b>АК</b>	2.500±0.764*	7.667±1.202*	0.333±0.211	4.500±1.057*	1.500±0.342	0.000±0.000
<b>D3</b>	0.333±0.211	2.000±0.577	0.000±0.000	4.167±1.046*	3.667±1.174	0.000±0.000
<b>Ca/D3</b>	0.833±0.307	2.667±0.494	0.000±0.000	7.667±1.308*	4.667±0.667*	1.500±0.224*
<b>АК+D3</b>	3.000±0.816*	10.167±1.302*	2.333±0.667*	7.833±0.792*	2.167±0.543	0.000±0.000
<b>АК+Ca/D3</b>	3.833±0.872*	9.500±0.922*	1.500±0.224*	9.167±1.108*	3.167±0.307	0.833±0.307*

Примітка. \* – відмінність достовірна відносно ІК,  $p < 0,05$  за U-критерієм Манна-Вітні.

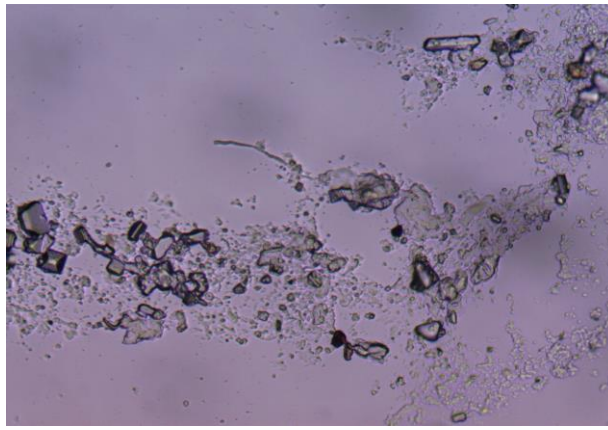


Рис. 3.7 Мікроскопія осаду сечі щурів групи АК. Збільшення  $\times 400$

Осад сечі щурів групи D3 (рис. 3.8, табл. 3.2) мав більш фізіологічний склад. Тільки кількість нейтральних фосфатів кальцію достовірно збільшилась трохи більше, ніж удвічі, порівняно з групою ІК.

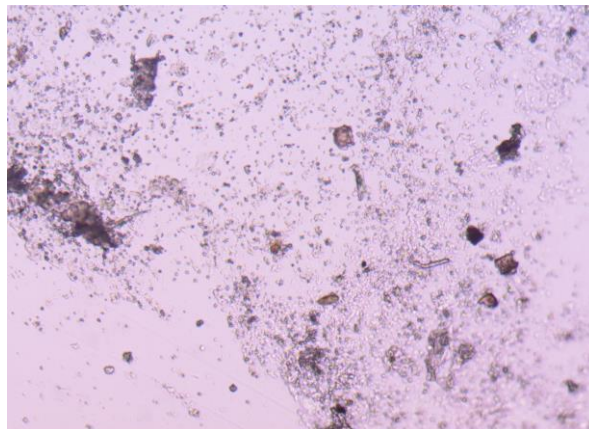


Рис. 3.8 Мікроскопія осаду сечі щурів групи D3. Збільшення  $\times 400$

Осад сечі щурів групи Ca/D3 (рис. 3.9, табл. 3.2), тобто за додаткового нутрієнтного навантаження солями кальцію, містив достовірно більшу кількість нейтральних фосфатів кальцію (у 3,8 разу) та аморфних фосфатів (у 2,3 разу). Окрім цього, на відміну від усіх попередніх груп, в осаді присутні трипельфосфати (1-2 у полі зору).

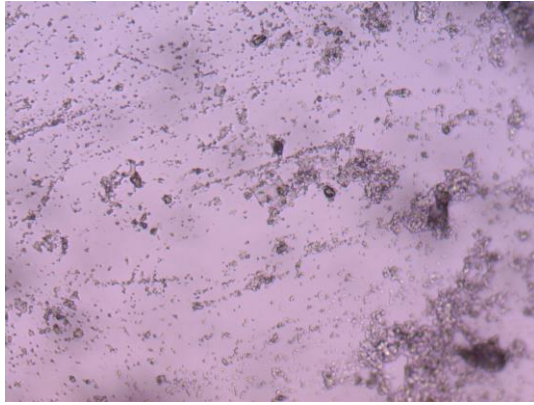


Рис. 3.9 Мікроскопія осаду сечі щурів групи Ca/D3. Збільшення  $\times 400$

В осаді сечі щурів групи AK+D3 (рис. 3.10, табл. 3.2) кількість кристалітів оксалатів кальцію у полі зору достовірно збільшилася порівняно з ІК майже у 18 разів, уратів – у 3,6 разу, нейтральних фосфатів кальцію – у 2,9 разу. Також спостерігалась велика кількість кристалів сечової кислоти (у середньому 2,3 у полі зору).

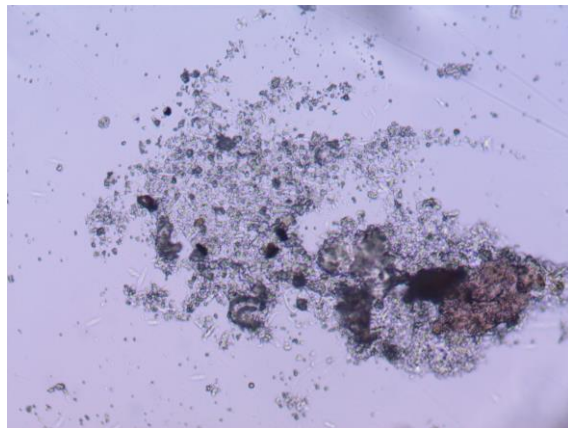


Рис. 3.10 Мікроскопія осаду сечі щурів групи AK+D3. Збільшення  $\times 400$

Найбільших змін зазнав якісний та кількісний склад осаду сечі щурів групи AK+Ca/D3 (рис. 3.11, табл. 3.2). Кількість майже усіх ідентифікованих типів кристалітів, окрім аморфних фосфатів, достовірно збільшилася порівняно з ІК: оксалатів кальцію – у 23 рази, уратів – у 3,4 разу, нейтральних фосфатів кальцію – у 4,6 разу. Також спостерігались кристали сечової кислоти (у середньому 1,5 у полі зору) та трипельфосфатів (у середньому 0,8 у полі зору).

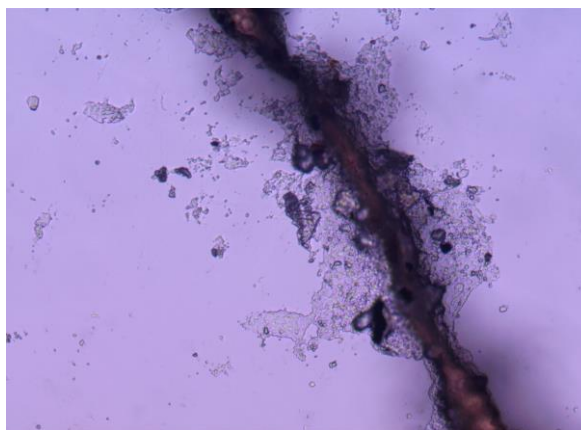


Рис. 3.11 Мікроскопія осаду сечі щурів групи AK+Ca/D3. Збільшення ×400

Основними висновками з вищевикладеного можуть бути такі:

- 1) аскорбінова кислота у високих дозах у будь-яких комбінаціях достовірно підвищує утворення кристалів оксалату кальцію, уратів та нейтральних фосфатів кальцію;
- 2) холекальциферол *per se* у високих дозах достовірно підвищує утворення нейтральних фосфатів кальцію;
- 3) додаткове нутрієнтне навантаження солями кальцію у будь-яких комбінаціях призводить до появи в осаді сечі кристалів трипельфосфатів;
- 4) саме комбінація аскорбінової кислоти та холекальциферолу (в т.ч. за додаткового нутрієнтного навантаження солями кальцію) викликає появу в осаді сечі кристалів сечової кислоти.

### **3.3 Вплив комбінованого високодозового застосування вітамінів С та D на вміст кальцію, фосфору, креатиніну та сечової кислоти у сироватці крові та сечі щурів**

При дослідженні вмісту кальцію, фосфору, креатиніну та сечової кислоти у сироватці крові (табл. 3.3) було доведено, що на тлі комбінованого високодозового застосування вітамінів С та D (в т.ч. за додаткового нутрієнтного навантаження солями кальцію) достовірних міжгрупових відмінностей у концентраціях креатиніну та сечової кислоти не спостерігається.

Таблиця 3.3

Вміст кальцію, фосфору, креатиніну та сечової кислоти в сироватці крові та сечі щурів,  $M \pm SEM$ 

Індекс групи	Група	Кальцій, ммоль/л	Фосфор, ммоль/л	Креатинін, ммоль/л	Сечова кислота, ммоль/л
<b>Сироватка крові</b>					
<b>A</b>	<b>ІК</b>	2.644±0.247	1.517±0.055	0.058±0.006	0.073±0.003
<b>B</b>	<b>АК</b>	2.589±0.271	1.514±0.046	0.052±0.005	0.067±0.006
<b>C</b>	<b>D3</b>	2.909±0.124	1.692±0.036	0.059±0.005	0.078±0.008
<b>D</b>	<b>Ca/D3</b>	3.403±0.188 <sup>b</sup>	1.127±0.080 <sup>a, b, c</sup>	0.060±0.006	0.074±0.003
<b>E</b>	<b>АК+D3</b>	2.160±0.125 <sup>d</sup>	1.541±0.099 <sup>d</sup>	0.064±0.007	0.063±0.007
<b>F</b>	<b>АК+Ca/D3</b>	2.856±0.095	1.456±0.092 <sup>d</sup>	0.065±0.007	0.065±0.005
<b>Сеча</b>					
<b>A</b>	<b>ІК</b>	4.951±0.709	20.338±1.483	11.787±0.314	1.135±0.132
<b>B</b>	<b>АК</b>	5.104±1.089	18.962±1.307	18.037±1.344 <sup>a</sup>	1.181±0.102
<b>C</b>	<b>D3</b>	7.100±0.659	24.937±1.203 <sup>b</sup>	10.649±0.297 <sup>b</sup>	1.090±0.117
<b>D</b>	<b>Ca/D3</b>	11.285±0.736 <sup>a, b, c</sup>	20.025±1.247	10.351±0.488 <sup>b</sup>	1.011±0.105
<b>E</b>	<b>АК+D3</b>	7.821±0.422 <sup>a, d</sup>	32.336±1.572 <sup>a, b, c, d</sup>	15.682±0.656 <sup>a, c, d</sup>	1.680±0.127 <sup>a, c, d</sup>
<b>F</b>	<b>АК+Ca/D3</b>	18.444±0.749 <sup>a, b, c, d, e</sup>	23.501±1.115 <sup>e</sup>	14.840±0.523 <sup>a, b, c, d</sup>	1.910±0.164 <sup>a, b, c, d</sup>

Примітки:

- <sup>a</sup> – відмінності достовірні відносно групи **ІК**, Tukey HSD test,  $p < 0,05$ ;  
<sup>b</sup> – відмінності достовірні відносно групи **АК**, Tukey HSD test,  $p < 0,05$ ;  
<sup>c</sup> – відмінності достовірні відносно групи **D3**, Tukey HSD test,  $p < 0,05$ ;  
<sup>d</sup> – відмінності достовірні відносно групи **Ca/D3**, Tukey HSD test,  $p < 0,05$ ;  
<sup>e</sup> – відмінності достовірні відносно групи **АК+D3**, Tukey HSD test,  $p < 0,05$ .

Проте, застосування холекальциферолу за додаткового нутрієнтного навантаження солями кальцію (група Ca/D3) призводило до підвищення концентрації кальцію в сироватці крові майже на 29 % порівняно з ІК, а з показником групи АК цей параметр достовірно відрізнявся на +31,4 % ( $p<0,05$ ). Одночасне введення аскорбінової кислоти та холекальциферолу (група АК+D3) викликало недостовірне зниження концентрації кальцію в сироватці крові на 18,3 % відносно ІК, проте цей параметр був достовірно нижчий на 36,5 % ( $p<0,05$ ) за показник групи Ca/D3.

Щодо впливу досліджуваних тест-зразків на вміст фосфору в сироватці крові щурів, то слід відмітити показник групи Ca/D3, який був достовірно нижчим порівняно з усіма експериментальними групами (рис. 3.12).

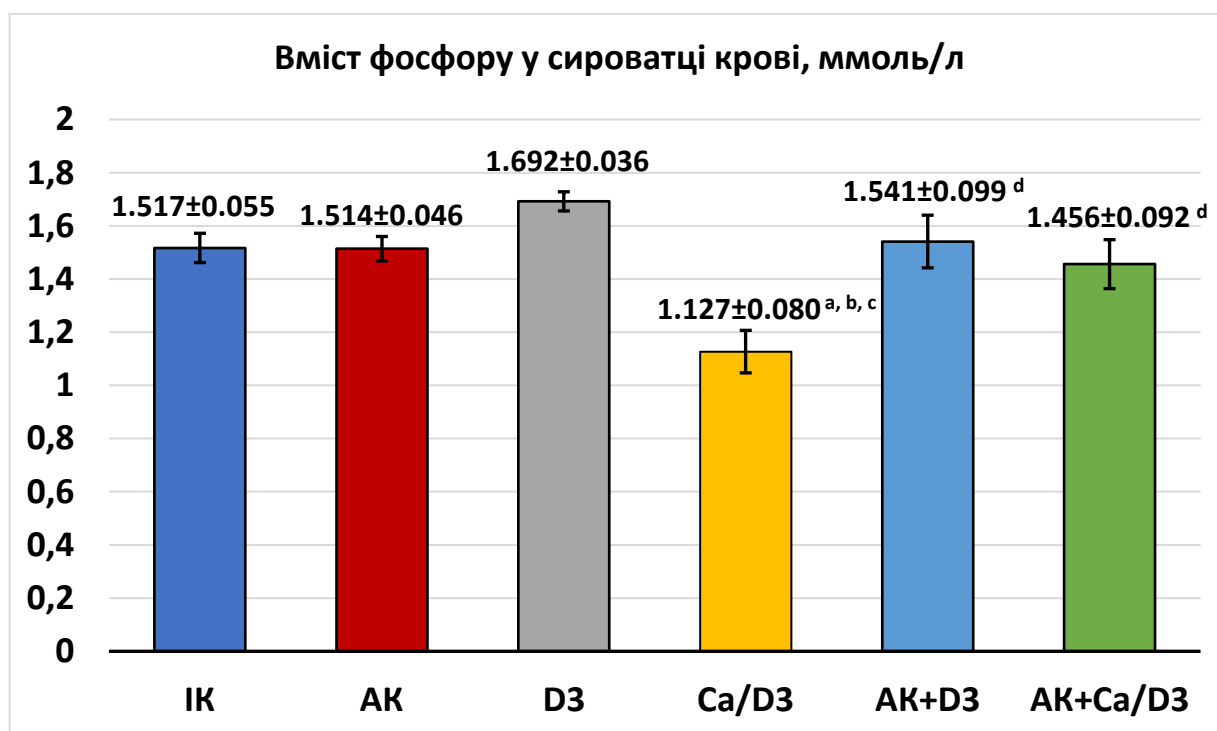


Рис. 3.12 Вміст фосфору у сироватці крові щурів експериментальних груп.

Примітки:

- <sup>a</sup> – відмінності достовірні відносно групи **ІК**, Tukey HSD test,  $p<0,05$ ;
- <sup>b</sup> – відмінності достовірні відносно групи **АК**, Tukey HSD test,  $p<0,05$ ;
- <sup>c</sup> – відмінності достовірні відносно групи **D3**, Tukey HSD test,  $p<0,05$ ;
- <sup>d</sup> – відмінності достовірні відносно групи **Ca/D3**, Tukey HSD test,  $p<0,05$ .

При дослідженні вмісту кальцію, фосфору, креатиніну та сечової кислоти у сечі були виявлені значні зміни показників, особливо у групах, що одержували комбінацію високих доз аскорбінової кислоти та холекальциферолу (табл. 3.3). Так, вміст кальцію у сечі тварин групи Ca/D3 майже у 2,3 разу ( $p<0,05$ ) перевищував такий у групі ІК, у 2,2 разу ( $p<0,05$ ) – у групі АК та в 1,6 разу ( $p<0,05$ ) – у групі D3. Вміст кальцію в сечі тварин групи АК+D3 був вищий за групу ІК на 58 % ( $p<0,05$ ), проте достовірно не відрізнявся від груп АК та D3. Найбільших змін вміст кальцію зазнав на тлі комбінованого застосування аскорбінової кислоти та холекальциферолу за додаткового нутрієнтного навантаження солями кальцію. У зазначеній групі (АК+Ca/D3) цей показник був у 3,7 разу більшим за ІК ( $p<0,05$ ) та достовірно відрізнявся від параметрів усіх інших експериментальних груп (рис. 3.13).

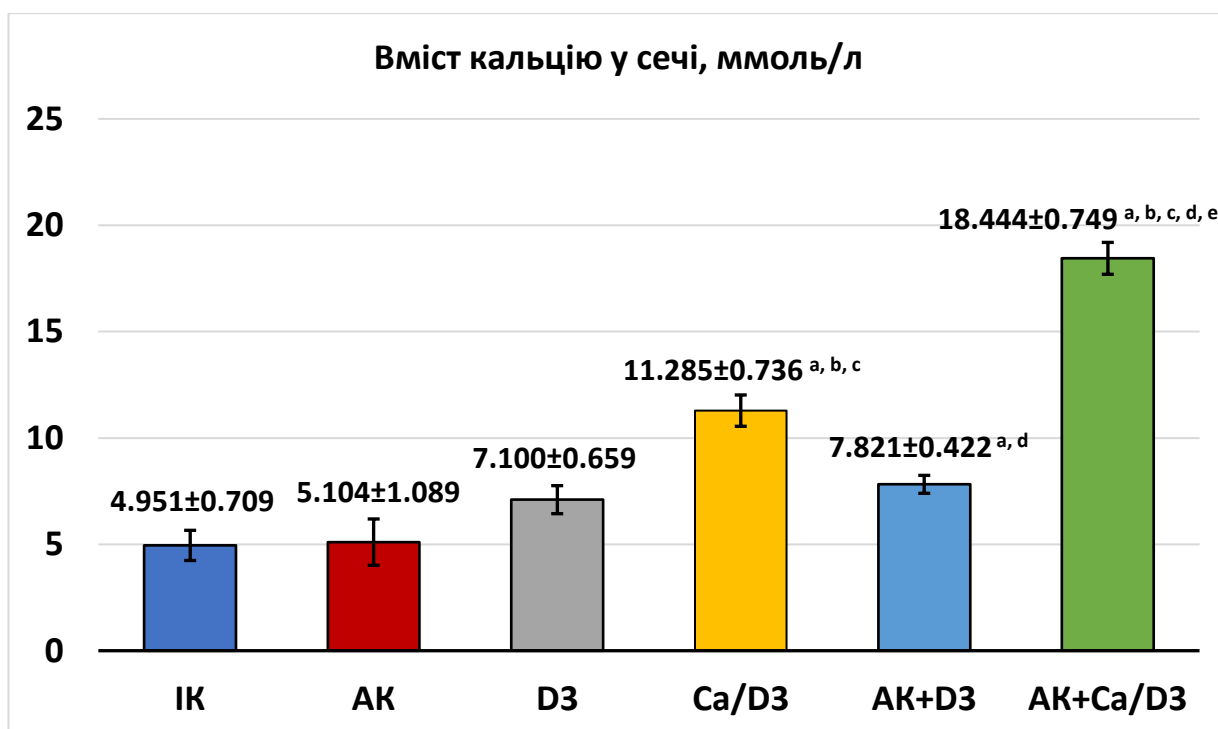


Рис. 3.13 Вміст кальцію у сечі щурів експериментальних груп.

Примітки:

- <sup>a</sup> – відмінності достовірні відносно групи **ІК**, Tukey HSD test,  $p<0,05$ ;
- <sup>b</sup> – відмінності достовірні відносно групи **АК**, Tukey HSD test,  $p<0,05$ ;
- <sup>c</sup> – відмінності достовірні відносно групи **D3**, Tukey HSD test,  $p<0,05$ ;
- <sup>d</sup> – відмінності достовірні відносно групи **Ca/D3**, Tukey HSD test,  $p<0,05$ ;
- <sup>e</sup> – відмінності достовірні відносно групи **АК+D3**, Tukey HSD test,  $p<0,05$ .



За результатами дослідження впливу на вміст фосфору в сечі слід відмітити недостовірне, але суттєве (на 22,6 %) підвищення концентрації у групі D3 порівняно з ІК, що вже достовірно відрізняється від показника групи АК (рис. 3.14). Але на найбільшу увагу заслуговує результат групи АК+D3, який на 60 % ( $p<0,05$ ) перевищував показник групи ІК та достовірно відрізнявся від параметрів усіх інших експериментальних груп.

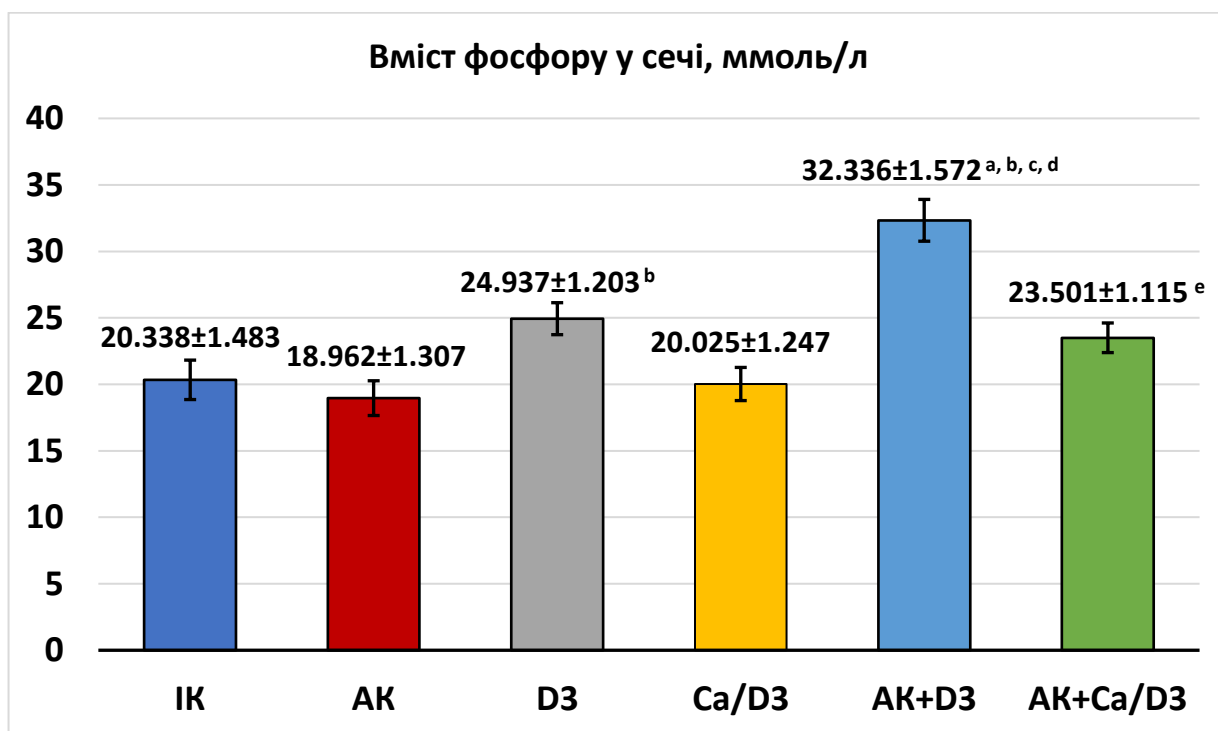


Рис. 3.14 Вміст фосфору у сечі щурів експериментальних груп

Примітки:

- <sup>a</sup> – відмінності достовірні відносно групи **ІК**, Tukey HSD test,  $p<0,05$ ;
- <sup>b</sup> – відмінності достовірні відносно групи **АК**, Tukey HSD test,  $p<0,05$ ;
- <sup>c</sup> – відмінності достовірні відносно групи **D3**, Tukey HSD test,  $p<0,05$ ;
- <sup>d</sup> – відмінності достовірні відносно групи **Ca/D3**, Tukey HSD test,  $p<0,05$ ;
- <sup>e</sup> – відмінності достовірні відносно групи **АК+D3**, Tukey HSD test,  $p<0,05$ .

При дослідженні вмісту креатиніну в сечі піддослідних щурів достовірно підвищення зазначеного показника спостерігали тільки у групах, що як монотерапію чи у складі комбінації одержували аскорбінову кислоту (табл. 3.3). У групі АК вміст креатиніну в сечі був вищим за ІК на 53 % ( $p<0,05$ ), у групі АК+D3 – на 33 % ( $p<0,05$ ) та у групі АК+Ca/D3 – на 26 % ( $p<0,05$ ) (рис. 3.15).

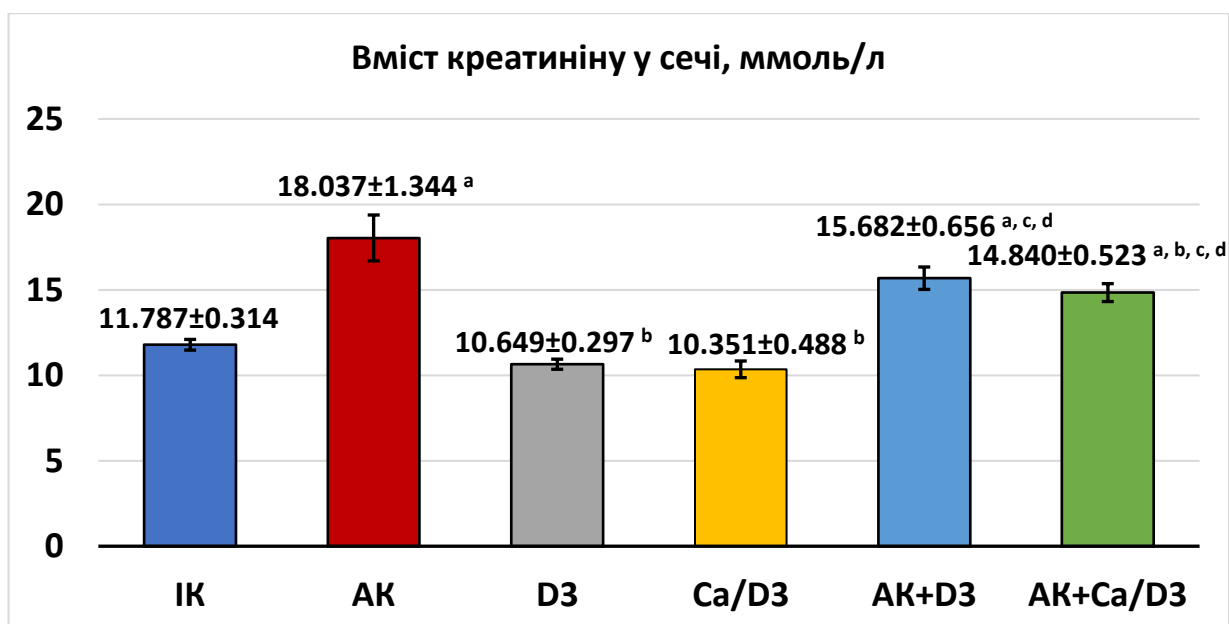


Рис. 3.15 Вміст креатиніну у сечі щурів експериментальних груп

Примітки:

- <sup>a</sup> – відмінності достовірні відносно групи **ІК**, Tukey HSD test,  $p < 0,05$ ;
- <sup>b</sup> – відмінності достовірні відносно групи **АК**, Tukey HSD test,  $p < 0,05$ ;
- <sup>c</sup> – відмінності достовірні відносно групи **D3**, Tukey HSD test,  $p < 0,05$ ;
- <sup>d</sup> – відмінності достовірні відносно групи **Ca/D3**, Tukey HSD test,  $p < 0,05$ .

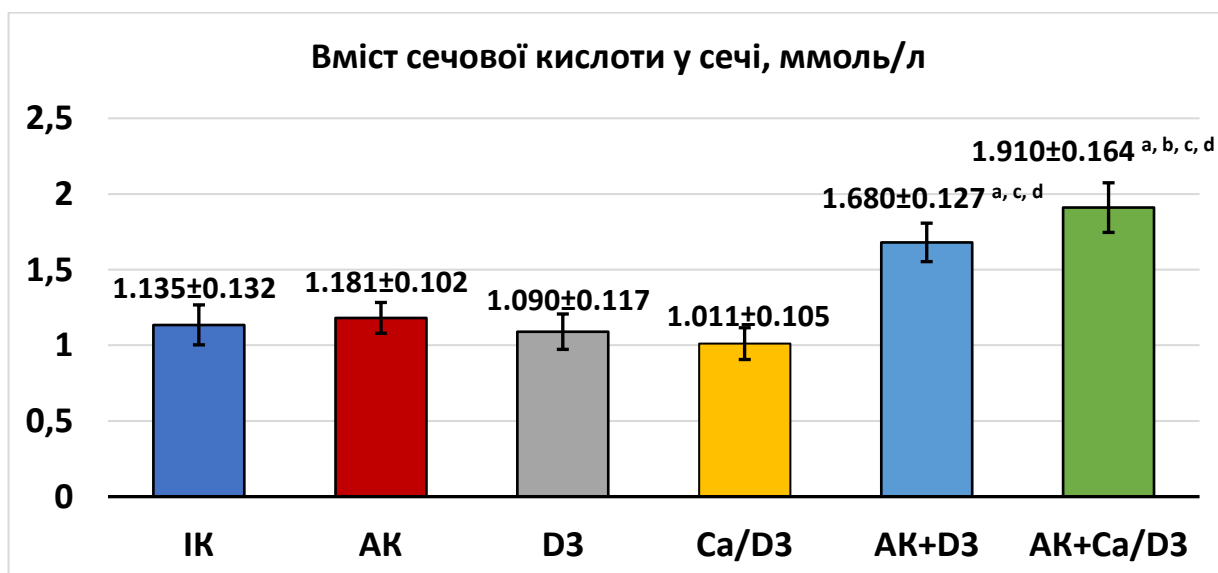


Рис. 3.16 Вміст сечової кислоти у сечі щурів експериментальних груп

Примітки:

- <sup>a</sup> – відмінності достовірні відносно групи **ІК**, Tukey HSD test,  $p < 0,05$ ;
- <sup>b</sup> – відмінності достовірні відносно групи **АК**, Tukey HSD test,  $p < 0,05$ ;
- <sup>c</sup> – відмінності достовірні відносно групи **D3**, Tukey HSD test,  $p < 0,05$ ;
- <sup>d</sup> – відмінності достовірні відносно групи **Ca/D3**, Tukey HSD test,  $p < 0,05$ .

Аналіз результатів дослідження вмісту сечової кислоти в сечі піддослідних щурів (табл. 3.3) показав, що на цей показник впливає тільки комбіноване застосування аскорбінової кислоти та холекальциферолу (в т.ч. за додаткового нутрієнтного навантаження солями кальцію). Порівняно з ІК вміст сечової кислоти достовірно підвищився майже в 1,5 рази в групі АК+D3 та в 1,7 разу – в групі АК+Ca/D3 (рис. 3.16).

Також були розраховані коефіцієнти, що віддзеркалюють кальцій-креатинінове, фосфор-креатинінове співвідношення та співвідношення сечова кислота-креатинін у сечі щурів. Результати репрезентовані на рис. 3.17-3.19.

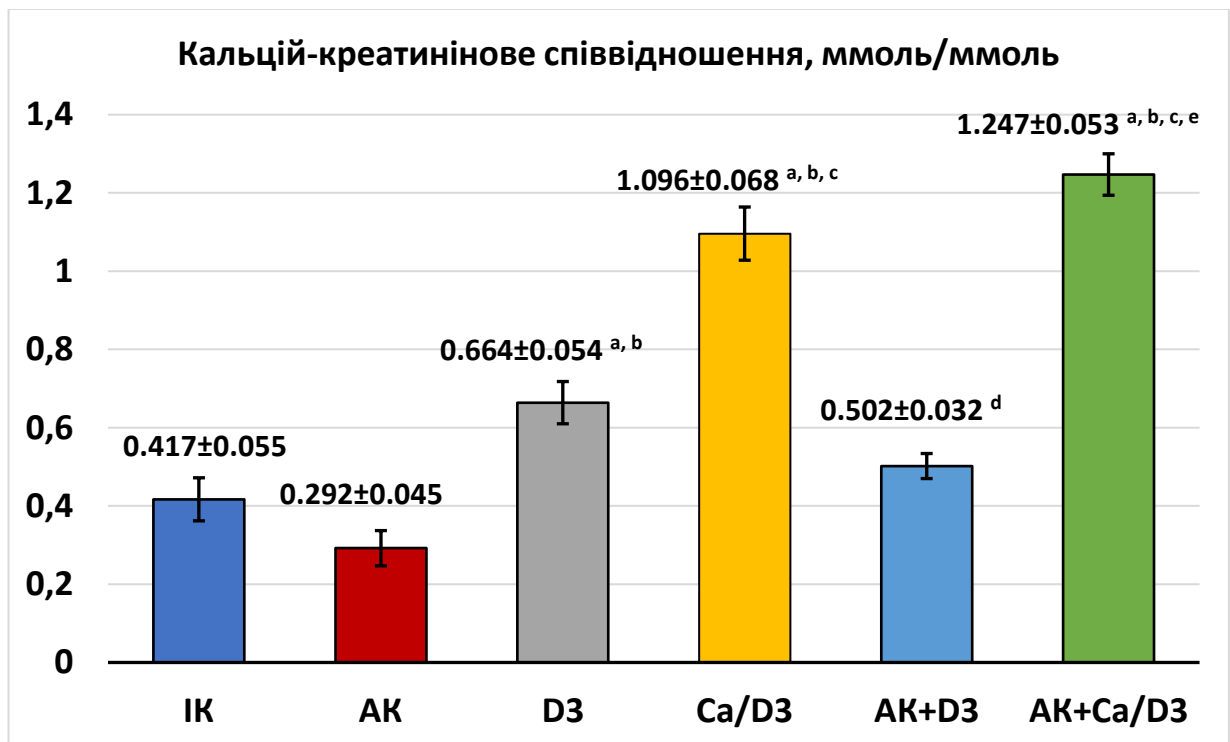


Рис. 3.17 Кальцій-креатинінове співвідношення у сечі щурів експериментальних груп

Примітки:

- <sup>a</sup> – відмінності достовірні відносно групи **ІК**, Tukey HSD test,  $p < 0,05$ ;
- <sup>b</sup> – відмінності достовірні відносно групи **АК**, Tukey HSD test,  $p < 0,05$ ;
- <sup>c</sup> – відмінності достовірні відносно групи **D3**, Tukey HSD test,  $p < 0,05$ ;
- <sup>d</sup> – відмінності достовірні відносно групи **Ca/D3**, Tukey HSD test,  $p < 0,05$ ;
- <sup>e</sup> – відмінності достовірні відносно групи **АК+D3**, Tukey HSD test,  $p < 0,05$ .

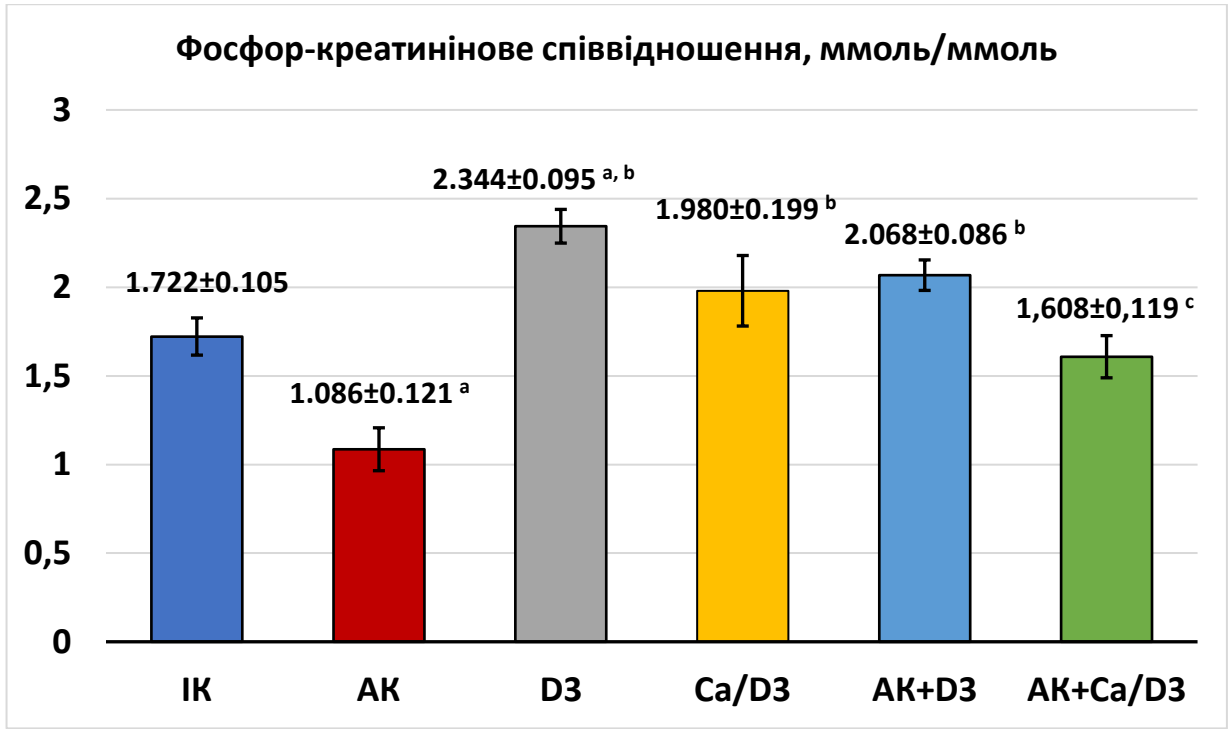


Рис. 3.18 Фосфор-креатинінове співвідношення у сечі щурів експериментальних груп

Примітки:  
<sup>a</sup> – відмінності достовірні відносно групи **IK**, Tukey HSD test,  $p < 0,05$ ;  
<sup>b</sup> – відмінності достовірні відносно групи **AK**, Tukey HSD test,  $p < 0,05$ ;  
<sup>c</sup> – відмінності достовірні відносно групи **D3**, Tukey HSD test,  $p < 0,05$ .

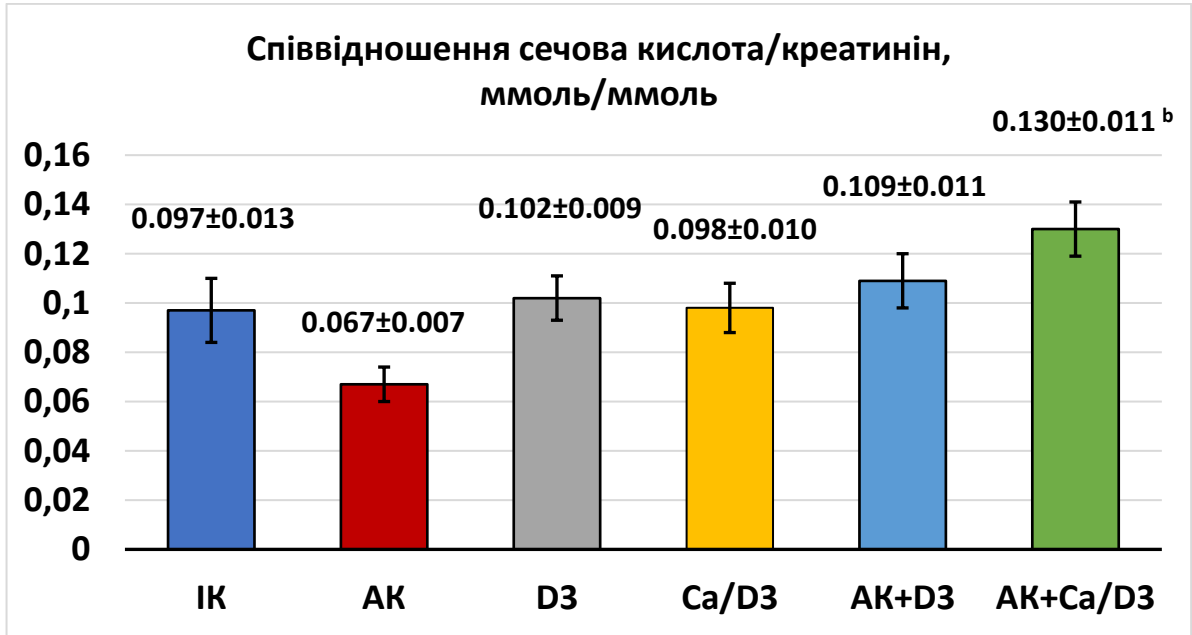


Рис. 3.19 Співвідношення сечова кислота / креатинін у сечі щурів експериментальних груп

Примітка. <sup>b</sup> – відмінності достовірні відносно групи AK, Tukey HSD test,  $p < 0,05$ .

Незважаючи на те, що у тварин груп та АК+D3 вміст кальцію в сечі вірогідно зростає (рис. 3.17), при розрахунку кальцій-креатинінового співвідношення цей показник залишався в межах інтактного контролю. В першу чергу це пов'язано з відсутністю змін в об'ємі добового діурезу (рис. 3.1) та у збільшенні екскреції креатиніну з сечею, що хибить прогностичне значення даного розрахункового показника для оцінки ризиків утворення конкрементів.

При цьому значення в групі АК+Ca/D3 не відповідає реальним ризикам. При розрахунку фосфор-креатинінового співвідношення значно знижується ризик втрати фосфатів з сечею в групі АК+Ca, що за сумою показників є свідченням передозування вітаміном D.

Узагальнення одержаних результатів дозволяє зробити наступні висновки:

- 1) аскорбінова кислота у високих дозах у будь-яких комбінаціях достовірно підвищує вміст креатиніну в сечі;
- 2) препарати кальцію у високих дозах достовірно підвищують вміст кальцію в сироватці та сечі;
- 3) Комбінація аскорбінової кислоти з холекальциферолом у високих дозах призводить до збільшення втрат кальцію та фосфору з сечею;
- 4) Комбінація аскорбінової кислоти з холекальциферолом може призводити до недостовірності прогностичних показників, що застосовуються для оцінки ризику утворення конкрементів.

### **3.4 Гістоморфологічний аналіз стану нирок щурів на тлі комбінованого високодозового застосування вітамінів С та D**

У тварин інтактного контролю, а також у тварин на тлі застосування препаратів аскорбінової кислоти та холекальциферолу окремо гістоструктура нирок відповідала фізіологічним нормам з незначними змінами (рис. 3.20).

В інших групах у тварин спостерігалися утворення схожі на бляшки Рендала, що дозволяє вважати їх сольовими депозитами, осередками конкрементоутворення (рис. 3.21).

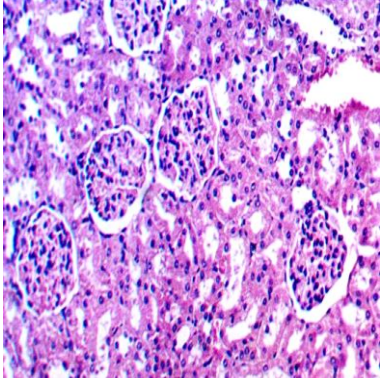
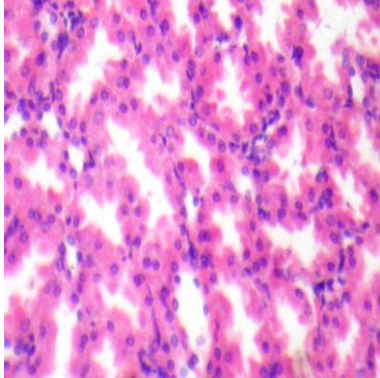
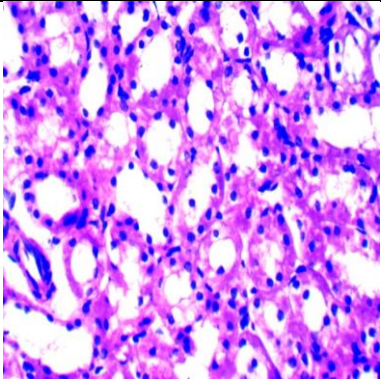
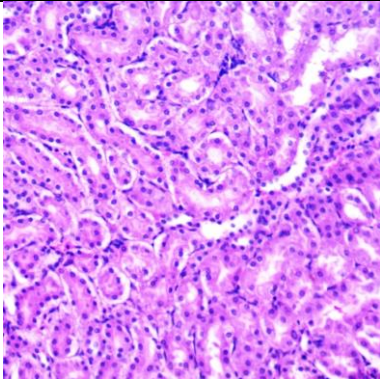
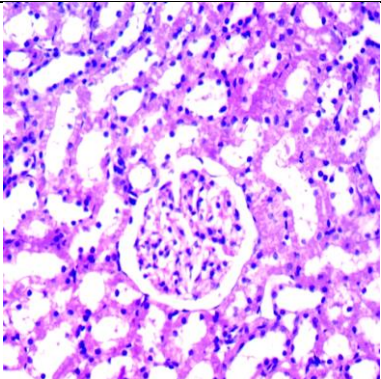
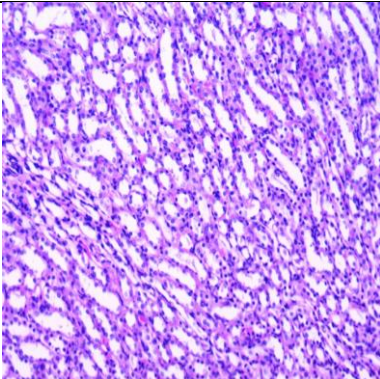
Група	Мікрофотографія А	Мікрофотографія Б
ІК		
АК		
D3		

Рис. 3.20 Мікрофотографії препаратів нирок щурів груп ІК, АК та D3

Примітки:

ІК – субкапсулярна зона кіркової речовини (а,  $\times 250$ ) та кортико-медулярна зона (б,  $\times 400$ ), незмінені ниркові тільця та звивисті канальці.

АК – помірна вакуолізація нефроцитів канальців субкапсулярної зони (а,  $\times 250$ ), набухання нефротелію канальців кортико-медулярної зони (б,  $\times 200$ ).

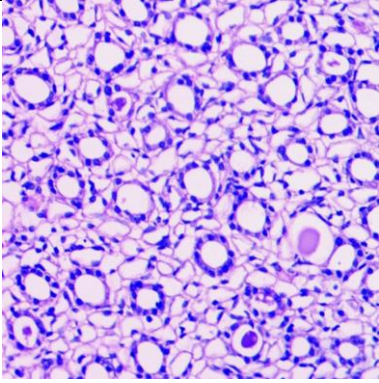
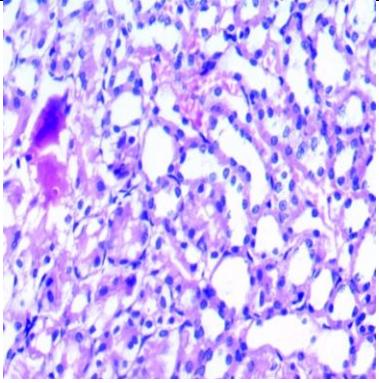
D3 – відсутність помітних змін у гістоструктурі канальців та збиральних трубочок мозкового шару (а,  $\times 200$ ) та ниркового сосочка (б,  $\times 200$ ).



Після комбінованого введення аскорбінової кислоти і холекальциферолу у нирках практично всіх щурів у просвіті нечисленних прямих каналців мозкового шару і збиральних трубочок ниркового сосочка виявлені ніжно-сітчасті або гомогенні маси достатньо потужно базофільної забарвленості, дуже схожі на кальцієві депозити. Вони не мали обтураційного характеру, перифокально не помічено запальної лімфо-гістіоцитарної інфільтрації. В основному такі відкладення сполук кальцію спостерігаються в області підвалини та середньої частини ниркового сосочка.

Епітеліальні клітини збиральних трубочок в деяких випадках виразно стоншені. Виразність описаних вище змін суттєво коливалася у різних тварин у межах групи.

У щурів групи АК+Ca/D3 наявність кальцієвих депозитів виявлені у всіх тварин. У мозковому шарі дрібні гомогенні маси були присутні у просвіті більшості прямих каналців. У нирковому сосочку – переважно у підвалині та середньої треті його. В окремих випадках відкладення сполук кальцію відмічали у просвіті каналців кортико-медулярної зони. Доволі часто спостерігали вакуолізацію нефроцитів кіркових каналців. Як і у попередніх групах щурів, комбінація не викликає ознак морфологічних змін ниркових тілець.

Група	Мікрофотографія А	Мікрофотографія Б
<b>Ca/D3</b>		

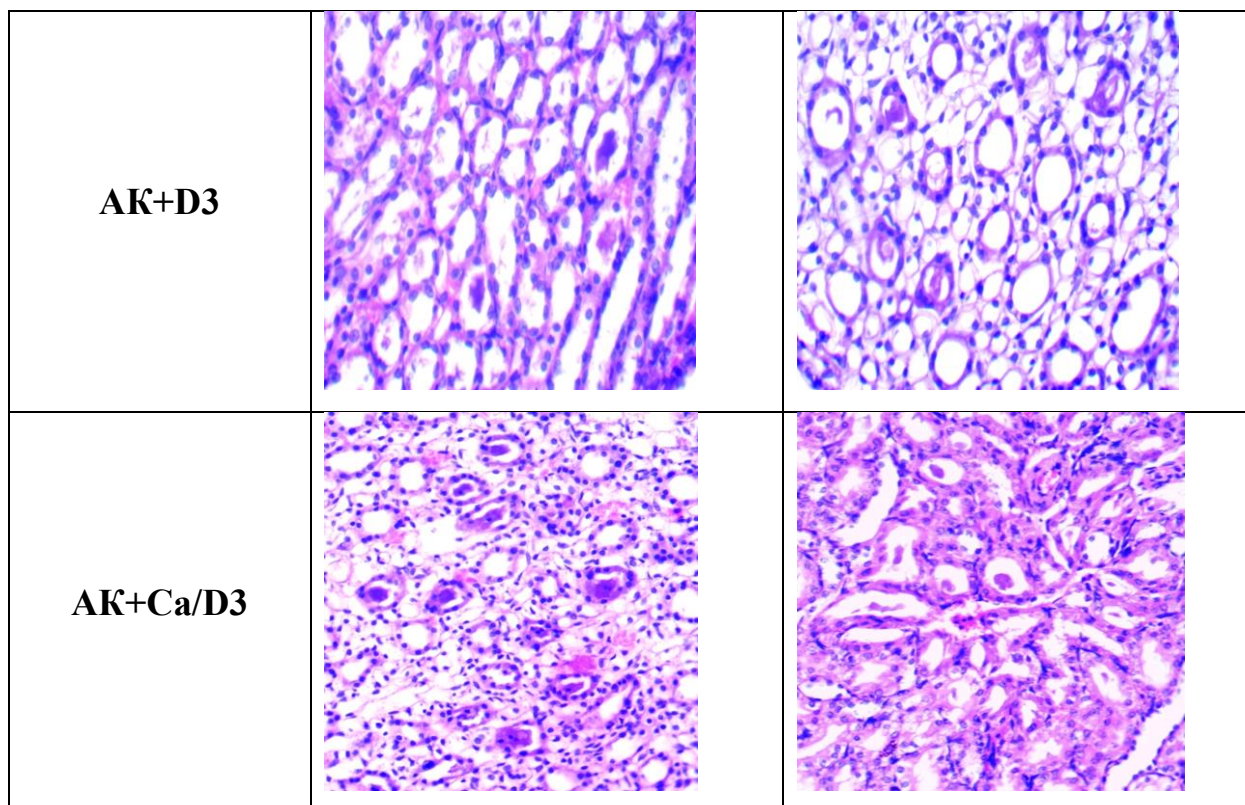


Рис. 3.21 Мікрофотографії препаратів нирок щурів груп Ca/D3, AK+D3 та AK+Ca/D3

**Примітки:**

Ca/D3 – кальцієві депозити у просвіті збиральних трубочок ниркового сосочка (а,  $\times 250$ ) та у просвіті одиничних прямих каналців мозкового шару (б,  $\times 250$ );

AK+D3 – кальцієві депозити у просвіті прямих каналців мозкового шару (а,  $\times 250$ ) і збиральних трубочок ниркового сосочка (б,  $\times 250$ );

AK+Ca/D3 – доволі численні кальцієві депозити у просвіті збиральних трубочок ниркового сосочка (а,  $\times 250$ ) та у просвіті каналців кортико-медулярної зони (б,  $\times 250$ ), вакуолізація нефроцитів.

Основними висновками з вищевикладеного можуть бути такі:

- 1) жодний з тест-зразків та їх комбінацій не призводили до пошкодження ниркових тілець, не викликали некроз нефроцитів та не призводили до змін цитоархітектоніки нирок, що свідчить на користь відсутності прямого токсичного впливу на сечовидільну систему;
- 2) монозастосування надвисоких доз аскорбінової кислоти та холекальциферолу не призводило до появи літогенних процесів у нирках щурів;



- 3) застосування комбінованого препарату кальцію з холекальциферолом та комбінації аскорбінової кислоти та холекальциферолу (з кальцієм або без нього) у високих дозах сприяло ініціації літогенних процесів.

### **Висновки до розділу 3**

1. Аналіз одержаних результатів показав, що аскорбінова кислота у високих дозах достовірно знижує показник рН сечі щурів, а також при додатковому нутрієнтному навантаженні солями кальцію у групах, що одержували різні комбінації високих доз холекальциферолу та аскорбінової кислоти спостерігалось підвищення рН сечі.
2. Доведено, що комбінація аскорбінової кислоти та холекальциферолу (в т.ч. за додаткового нутрієнтного навантаження солями кальцію) викликає появу в осаді сечі кристалів сечової кислоти.
3. Комбінація аскорбінової кислоти з холекальциферолом у високих дозах призводить до збільшення втрат кальцію та фосфору з сечею та може призводити до недостовірності прогностичних показників, що застосовуються для оцінки ризику утворення конкрементів.
4. Доведено, що застосування комбінованого препарату кальцію з холекальциферолом та комбінації аскорбінової кислоти та холекальциферолу (з кальцієм або без нього) у високих дозах сприяло ініціації літогенних процесів.

## ЗАГАЛЬНІ ВИСНОВКИ

1. У літературних джерелах широко обґрунтована потенційна можливість застосування вітамінів С та D для зниження сприйнятливості людини до інфекції, прогресування симптомів та ймовірності тяжкого захворювання.

2. Аскорбінова кислота в комбінації з холекальциферолом (в т.ч. за додаткового нутрієнтного навантаження солями кальцію) у високих дозах у будь-яких комбінаціях достовірно підвищує утворення погано розчинних кальційвмісних солей в складі сечі та сприяє виникненню інших дрібних комбінованих конкрементів, що свідчить про збільшення іонного навантаження сечі та підвищує ризик розвитку уролітіазу.

3. Комбінація аскорбінової кислоти з холекальциферолом у високих дозах призводить до збільшення втрат кальцію та фосфору з сечею; комбінація аскорбінової кислоти з холекальциферолом може призводити до недостовірності прогностичних показників, що застосовуються для оцінки ризику утворення конкрементів.

4. Результати гістоморфологічного аналізу стану нирок свідчить на користь відсутності прямого токсичного впливу на сечовидільну систему будь-яких досліджених тест-зразків, але застосування комбінованого препарату кальцію з холекальциферолом та комбінації аскорбінової кислоти та холекальциферолу (з кальцієм або без нього) у високих дозах сприяло ініціації літогенних процесів.

5. Одержані результати розширюють та поглиблюють знання щодо лікарської взаємодії та фармакобезпеки високодозового одночасного застосування вітамінів С та D (в т.ч. за додаткового навантаження солями кальцію). Результати дослідження є підґрунтям для ініціації системою фармаконагляду аналізу доцільності клінічного застосування високих доз вітамінів при респіраторних інфекційних захворюваннях та перегляду фактору «користь – шкода» у пацієнтів з нефролітіазом.

## СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Pathophysiology, transmission, diagnosis, and treatment of coronavirus disease 2019 (COVID-19) / W. J. Wiersinga et al. *JAMA*. 2020. Vol. 324, № 8. P. 782–793.
2. WHO 2022. URL: <https://covid19.who.int/> (Date of access: 17.01.2022).
3. Luchsinger L. L., Hillyer C. D. Vaccine efficacy probable against COVID-19 variants. *Science*. 2021. Vol. 371, № 6534. Art. № 1116.
4. Jordan R. E., Adab P., Cheng K. K. Covid-19: risk factors for severe disease and death. *BMJ*. 2020. Vol. 368. Art. № m1198.
5. Sex-specific SARS-CoV-2 mortality: among hormone-modulated ACE2 expression, risk of venous thromboembolism and hypovitaminosis D / S. La Vignera et al. *Int J Mol Sci*. 2020. Vol. 21, № 8. Art. № 2948.
6. HLH across speciality collaboration, UK. COVID-19: consider cytokine storm syndromes and immunosuppression / P. Mehta et al. *Lancet*. 2020. Vol. 395, № 10229. P. 1033–1034.
7. The Role of Nutrition in COVID-19 Susceptibility and Severity of Disease: A Systematic Review / P. T. James et al. *The Journal of nutrition*. 2021. Vol. 151, № 7. P. 1854–1878.
8. Carr A. C., Silvia M. Vitamin C and immune function. *Nutrient*. 2017. Vol. 9, № 11. Art. № 1211.
9. Leibovitz B., Benjamin V. S. Ascorbic acid and the immune response. *Diet Resist*. 1981. Dis. 1. P. 1–25.
10. Dey S., Biswadev B. Killing of *S. aureus* in murine peritoneal macrophages by Ascorbic acid along with antibiotics chloramphenicol or ofloxacin: Correlation with inflammation. *Microbial Pathog*. 2018. Vol. 115. P. 239–250.
11. Efficacy of vitamin C in patients with sepsis: An updated meta-analysis / X.-B. Wei et al. *Eur. J. Pharmacol*. 2020. Vol. 868. Art. № 172889.
12. Ascorbic acid attenuates lipopolysaccharide-induced acute lung injury / B. J. Fisher et al. *Crit. Care Med*. 2011. Vol. 39, № 6. P. 1454–1460.

13. Phase I safety trial of intravenous ascorbic acid in patients with severe sepsis / A. A. Fowler et al. *J. Transl. Med.* 2014. Vol. 12. Art. № 32.
14. Effect of Vitamin C infusion on organ failure and biomarkers of inflammation and vascular injury in patients with sepsis and severe acute respiratory failure: The CITRIS-ALI randomized clinical trial / A. A. Fowler et al. *JAMA*. 2019. Vol. 322, № 13. P. 1261–1270.
15. Hydrocortisone, vitamin C, and thiamine for the treatment of severe sepsis and septic shock: A retrospective before-after study / P. E. Marik et al. *Chest*. 2017. Vol. 151, № 6. P. 1229–1238.
16. Combined vitamin C, hydrocortisone, and thiamine therapy for patients with severe pneumonia who were admitted to the intensive care unit: Propensity score-based analysis of a before-after cohort study / W.-Y. Kim et al. *J. Critical Care*. 2018. Vol. 47. P. 211–218.
17. Hemilä H., Elizabeth C. Vitamin C can shorten the length of stay in the ICU: A meta-analysis. *Nutrients*. 2019. Vol. 11, № 4. Art. № 708.
18. Pilot trial of high-dose vitamin C in critically ill COVID-19 patients / J. Zhang et al. *Ann. Intensive Care*. 2021. Vol. 11, № 1. P. 1–12.
19. Analysis of vitamin D level among asymptomatic and critically ill COVID-19 patients and its correlation with inflammatory markers / A. Jain et al. *Scientific Reports*. 2020. Vol. 10, № 1. Art. № 20191.
20. Evidence that vitamin D supplementation could reduce risk of influenza and COVID-19 infections and deaths / W. B. Grant et al. *Nutrients*. 2020. Vol. 12, № 4. Art. № 988.
21. Vitamin D deficiency as a predictor of poor prognosis in patients with acute respiratory failure due to COVID-19 / G. E. Carpagnano et al. *J. Endocrinol. Invest.* 2020. Vol. 9. P. 1–7.
22. Chambers E. S., Hawrylowicz C. M. The impact of vitamin D on regulatory T cells. *Current Allergy Asthma Reports*. 2011. Vol. 11, № 1. P. 29–36.

23. Association of VITAMIN D status and other clinical characteristics with COVID-19 test results / D. O. Meltzer et al. *JAMA Netw. Open.* 2020. Vol. 3, № 9. Art. № e2019722.
24. Vitamin D: Modulator of the immune system / F. Baeke et al. *Curr. Opin. Pharmacol.* 2010. Vol. 10, № 4. P. 482–496.
25. Aygun H. Vitamin D can prevent COVID-19 infection-induced multiple organ damage. *Naunyn. Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 2020. Vol. 393, № 7. P. 1157–1160.
26. Vitamin D alleviates lipopolysaccharide-induced acute lung injury via regulation of the renin-angiotensin system / J. Xu et al. *Mol Med Rep.* 2017. Vol. 16, № 5. P. 7432–7438.
27. Angiotensin-converting enzyme 2 protects from severe acute lung failure / Y. Imai et al. *Nature.* 2005. Vol. 436, № 7047. P. 112–116.
28. Impact of antioxidant supplementation on chemotherapeutic toxicity: a systematic review of the evidence from randomized controlled trials / K. I. Block et al. *Int J Cancer.* 2008. Vol. 123. P. 1227–1239.
29. Temple B. R. Vitamin toxicity. In: Dart R. C., editor. *Medical toxicology. Lippincott Williams and Wilkins (Philadelphia).* 2004. P. 1017–1024.
30. Expert Group on Vitamins and Minerals. Risk assessments. In: *Safe upper levels for vitamins and minerals. Food Standards Agency (London,).* 2003. P. 100–153.
31. Assouline S., Miller W. H. High-dose vitamin C therapy. *Can Med Assoc J.* 2006. Vol. 174. P. 956–957.
32. Halliwell B. Vitamin C: poison, prophylactic or panacea? *Trends Biochem Sci.* 1999. Vol. 24. P. 255–259.
33. Reuter H. D., Vitamins. In: Aronson J. K., editor. *Side effects of drugs Annual 27. Elsevier BV (Amsterdam).* 2004. P. 405–413.
34. Rutkowski M., Grzegorzcyk K. Vitamins with antioxidant action: a general characterisation. Part III : Vitamin C. *Farm Pol.* 1999. Vol. 55. P. 74–79 [in Polish].

35. Choi H. K., Xiang G., Curhan G. Vitamin C intake and the risk of gout in men. *Arch Intern Med.* 2009. Vol. 169. P. 502–507.
36. Taylor E. N., Stampfer M. J., Curhan G. C. Dietary factors and the risk of incident kidney stones in men – new insights after 14 years of follow-up. *J Am Soc Nephrol.* 2004. Vol. 15. P. 3225–3232.
37. Encyclopedia of dietary supplements / P. M. Coates et al. *Marcel Dekker (New York).* 2005.
38. Auer B. L., Auer D., Rodgers A. L. Relative hyperoxaluria, crystalluria and haematuria after megadose ingestion of vitamin C. *Eur J Clin Invest.* 1998. Vol. 28. P. 695–700.
39. Halliwell B. Establishing the significance and optimal intake of dietary antioxidants. *Nutr Rev.* 1999. Vol. 57. P. 104–113.
40. Rogovik A. L., Vohra S., Goldman R. D. Safety considerations and potential interactions of vitamins: should vitamins be considered drugs? *Ann Pharmacother.* 2010. Vol. 44. P. 311–324.
41. Stargrove M. B., Treasure J., McKee D. L. Herb, nutrient, and drug interactions: clinical implications and therapeutic strategies. *Mosby Elsevier (St. Louis).* 2008.
42. Schwedhelm E., Maas R., Troost R., Boger R. H. Clinical pharmacokinetics of antioxidants and their impact on systemic oxidative stress. *Clin Pharmacokinet.* 2003. Vol. 42. P. 437–459.
43. Hamrick I., Counts S. H. Vitamin and mineral supplements. *Wellness Prevent.* 2008. Vol. 35. P. 729–747.
44. Lane N. Oxygen: the molecule that made the world. *Oxford University Press (New York).* 2004.
45. Cook J. D., Reddy M. B. Effect of ascorbic acid intake on nonheme-iron absorption from a complete diet. *Am J Clin Nutr.* 2001. Vol. 73. P. 93–98.
46. Carr A., Frei B. Does vitamin C act as a pro-oxidant under physiological conditions? *FASEB J.* 1999. Vol. 13. P. 1007–1024.

47. Lee S. H., Oe T., Blair I. A. Vitamin C-induced decomposition of lipid hydroperoxides to endogenous genotoxins. *Science*. 2001. Vol. 292. P. 2083–2086.
48. Wilson J. X. The physiological role of dehydroascorbic acid. *FEBS Lett*. 2002. Vol. 527. P. 5–9.
49. Dehydroascorbic acid irreversibly inhibits hexokinase activity / M. Fiorani et al. *Mol Cell Biochem*. 2000. Vol. 209. P. 145–153.
50. Noureldin Y. A., da Silva A., Fahmy N., Andonian S. Is it safe to prescribe ascorbic acid for urinary acidification in stone-forming patients with alkaline urine? *Turkish journal of urology*. 2017. Vol. 43, № 2. P. 183–188.
51. Dinour D., Davidovits M., Aviner S. Maternal and infantile hypercalcemia caused by vitamin-D-hydroxylase mutations and vitamin D intake. *Pediatr Nephrol*. 2015. Vol. 30. P. 145–152.
52. Autosomal-recessive mutations in SLC34A1 encoding sodium-phosphate cotransporter 2A cause idiopathic infantile hypercalcemia / K. P. Schlingmann et al. *J Am Soc Nephrol*. 2016. Vol. 27. P. 604–614.
53. Tebben P. J., Singh R. J., Kumar R. Vitamin D-mediated hypercalcemia: mechanisms, diagnosis, and treatment. *Endocr Rev*. 2016. Vol. 37. P. 521–547.
54. Gupta A. K., Jamwal V., Sakul, Malhotra P. Hypervitaminosis D and systemic manifestations: a comprehensive review. *JIMSA*. 2014. Vol. 27. P. 236–237.
55. Potts J. T. Jr, Juppner H. Disorders of the parathyroid gland and calcium homeostasis. In: Longo D. L., Fauci A. S., Kasper D. l., Hauser S. l., Jameson J. l., Loscalzo J., editors. *Harrison's Principles of Internal Medicine (New York)*. 2012. Vol. 2, № 18. P. 3096–3129.
56. Khieng V., Stevens C. Vitamin D toxicity: a case study. *N Zeal J Med Lab Sci*. 2010. Vol. 64. P. 44–50.
57. Jones G. Pharmacokinetics of vitamin D toxicity. *Am J Clin Nutr*. 2008. Vol. 88. P. 582–586.

58. Selby P. L., Davies M., Marks J. S., Mawer E. B. Vitamin D intoxication causes hypercalcaemia by increased bone resorption which responds to pamidronate. *Clin Endocrinol.* 1995. Vol. 43. P. 531–536.
59. Assessment of the free fraction of 25-hydroxyvitamin D in serum and its regulation by albumin and the vitamin D-binding protein / D. D. Bikle et al. *J Clin Endocrinol Metab.* 1986. Vol. 63. P. 954–959.
60. Bikle D. D., Gee E. Free, and not total, 1,25-dihydroxyvitamin D regulates 25-hydroxyvitamin D metabolism by keratinocytes. *Endocrinology.* 1989. Vol. 124. P. 649–654.
61. Serum levels of free 1,25-dihydroxyvitamin D in vitamin D toxicity / J. M. Pettifor et al. *Ann Intern Med.* 1995. Vol. 122. P. 511–513.
62. Vitamin D, calcium homeostasis and aging / V. Veldurthy et al. *Bone research.* 2016. Vol. 4. Art. № 16041.
63. Кожем'якін Ю. М., Хромов О. С., Філоненко М. А., Сайфетдінова Г. А. Науково-практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними. *Авіцена (Київ).* 2002. 196 с.
64. Guide for the care and use of laboratory animals. *The National Academies Press (Washington).* 2011. 246 p.
65. Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes. *Official Journal of the European Union.* 2010. L276. P. 33–79.
66. Директива Совета ЕС о сближении законов, постановлений и администрирование положений государств ЕС по вопросам защиты животных, используемых для экспериментальных и других научных целей (86/609/ЕЕС) // *Надлежащая производственная практика лекарственных средств.* // Под ред. Н. А. Ляпунова, В. А. Загория, В. П. Георгиевского, Е. П. Безуглой. К. : Морион, 1999. С. 508–545.
67. Johnson P. D., Besselsen D. G. Practical Aspects of Experimental Design in Animal Research. *ILAR Journal.* 2002. Vol. 43, № 4. P. 202–206.



68. Клінічна настанова Клінічне ведення пацієнтів з COVID-19 : Клінічна настанова МОЗ України від 16.01.2021р. № КН 2021-762. URL: <https://www.dec.gov.ua/mtd/koronavirusna-hvoroba-2019-covid-19/> (Дата оновлення: 12.04.2021).

69. The National Library of Medicine (NLM), Official Web site ClinicalTrials.gov URL: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/study/NCT04407286?term=vitamin+d&cond=COVID&draw=2&rank=5> (Date of access: 17.01.2022).

70. Vitamin D supplementation for the prevention and treatment of COVID-19: a position statement from the Spanish Society of Geriatrics and Gerontology / F. J. Tarazona-Santabalbina et al. *Revista espanola de geriatria y gerontologia*. 2021. Vol. 56, № 3. P. 177–182.

71. Effect of High-Dose Zinc and Ascorbic Acid Supplementation vs Usual Care on Symptom Length and Reduction Among Ambulatory Patients With SARS-CoV-2 Infection: The COVID A to Z Randomized Clinical Trial / S. Thomas et al. *JAMA Netw Open*. 2021. Vol. 4, № 2. Art. № e210369.

72. Boretti A., Banik B. K. Intravenous vitamin C for reduction of cytokines storm in acute respiratory distress syndrome. *PharmaNutrition*. 2020. Vol. 12. Art. № 100190.

73. Nair A. B., Jacob S. A simple practice guide for dose conversion between animals and human. *Journal of Basic and Clinical Pharmacy*. 2016. Vol. 7, № 2. P. 27–31.

74. Hydrophobic Sand Versus Metabolic Cages: A Comparison of Urine Collection Methods for Rats (*Rattus norvegicus*) / J. F. Hoffman et al. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science*. 2018. Vol. 57, № 1. P. 51–57.

75. Kulick L. J., Clemons D. J., Hall R. L., Koch M. A. Refinement of the urine concentration test in rats. *Contemporary topics in laboratory animal science*. 2005. Vol. 44, № 1. P. 46–49.

76. Feldman A. T., Wolfe D. Tissue Processing and Hematoxylin and Eosin Staining. In: Day C. (eds) *Histopathology. Methods in Molecular Biology* (Methods

and Protocols). *Humana Press (New York)*. 2014. Vol. 1180. P. 31–43.  
[https://doi.org/10.1007/978-1-4939-1050-2\\_3](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-1050-2_3)

77. Indrayan A., Malhotra K. R. Medical biostatistics. 4th ed. Boca Raton. *CRC Press*. 2018. 685 p.

78. Cronk B. C. How to use SPSS: a step-by-step guide to analysis and interpretation. 9th ed. Abingdon. *Routledge*. 2016. 276 p.

**ДОДАТКИ**

## ДОДАТОК А

Ministry of Health of Ukraine  
Ministry of Education and Science of Ukraine  
National University of Pharmacy  
Biological chemistry Department



### CERTIFICATE OF PARTICIPATION

ALINA POHULIAI 

participated in the International Scientific and Practical Conference  
«**TOPICAL ISSUES OF EXPERIMENTAL AND CLINICAL BIOCHEMISTRY**»

OCTOBER 01, 2021 • KHARKIV, UKRAINE

and published scientific paper

**ВПЛИВ НАДФІЗИОЛОГІЧНИХ ДОЗ АСКОРБІНОВОЇ КИСЛОТИ ТА ХОЛЕКАЛЬЦИФЕРОЛУ  
ОКРЕМО ТА В КОМБІНАЦІЇ НА ОБМІН ФОСФАТІВ У ЩУРІВ**

Certificate provides at least a 0,3 ECTS credits to awarded participants for being involtmen.



<https://en.nuph.edu.ua/>  
<https://biochem.nuph.edu.ua/en/>

The conference is included in the register of congresses,  
symposia and scientific-practical conferences planned for 2021,  
registration certificate UkrINTEI No 413, dated 16.09.2020.

Rector of the NUPH, prof.  
Vice-Rector of Research  
and Development, prof.  
Head of the Biological  
chemistry Department, prof.



Alla KOTVITSKA

Inna VLADIMIROVA

Vira KRAVCHENKO

SERIES: BIOCHEM-3 No 159-71-21



## ДОДАТОК А



**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ  
МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ  
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ  
КАФЕДРА БІОЛОГІЧНОЇ ХІМІЇ**

**MINISTRY OF HEALTH OF UKRAINE  
MINISTRY OF EDUCATION AND SCIENCE OF UKRAINE  
NATIONAL UNIVERSITY OF PHARMACY  
BIOLOGICAL CHEMISTRY DEPARTMENT**

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ УКРАИНЫ  
МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ УКРАИНЫ  
НАЦИОНАЛЬНЫЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ  
КАФЕДРА БИОЛОГИЧЕСКОЙ ХИМИИ**



**МАТЕРІАЛИ  
НАУКОВО-ПРАКТИЧНОЇ  
ON-LINE КОНФЕРЕНЦІЇ З МІЖНАРОДНОЮ УЧАСТЮ  
«АКТУАЛЬНІ ПИТАННЯ  
ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ТА КЛІНІЧНОЇ БІОХІМІЇ»**

**MATERIALS  
SCIENTIFIC AND PRACTICAL ON-LINE CONFERENCE  
WITH INTERNATIONAL PARTICIPATION  
«TOPICAL ISSUES OF  
EXPERIMENTAL AND CLINICAL BIOCHEMISTRY»**

**МАТЕРИАЛЫ  
НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКОЙ ON-LINE КОНФЕРЕНЦИИ  
С МЕЖДУНАРОДНЫМ УЧАСТИЕМ  
«АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ  
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ И КЛИНИЧЕСКОЙ БИОХИМИИ»**

**01 жовтня 2021 р.  
м. Харків, Україна**

**October 01, 2021  
Kharkiv, Ukraine**

**01 октября 2021 г.  
г. Харьков, Украина**



## ДОДАТОК А



Науково-практична конференція з міжнародною участю «Актуальні питання експериментальної та клінічної біохімії»  
(01 жовтня 2021 р., Харків, Україна)

**УДК 615.1**

**ББК 52.8**

**А 43**

**ЕЛЕКТРОННЕ ВИДАННЯ**

**Редакційна колегія:** проф. Алла КОТВИЦЬКА, проф. Інна ВЛАДИМИРОВА, проф. Віра КРАВЧЕНКО, доц. Ганна КРАВЧЕНКО, доц. Ігор СЕНЮК, доц. Олена ЩЕРБАК.

**Укладачі:** проф. Віра КРАВЧЕНКО, доц. Ганна КРАВЧЕНКО, доц. Ігор СЕНЮК, доц. Олена ЩЕРБАК.

**Актуальні питання експериментальної та клінічної біохімії:**

**А 43 матеріали науково-практичної *on-line* конференції з міжнародною участю (м. Харків, 01 жовтня 2021 р.). – Х. : НФаУ, 2021. – 315 с.**

Конференція внесена до реєстру з'їздів, конгресів, симпозіумів та науково-практичних конференцій, які заплановані у 2021 році, реєстраційне посвідчення УкрІНТЕІ №413, від 16.09.2020 р.

Дане видання представлене збірником матеріалів науково-практичної конференції, в якому наведені сучасні та актуальні питання розвитку експериментальної та клінічної біохімії. Метою заходу стало презентування результатів експериментальних досліджень науковців, які спрямовані до поглибленого вивчення клітинних та молекулярних механізмів розвитку поширених патологічних станів та їх фармакокорекцію. Автори у своїх роботах приділили увагу щодо вивчення біохімічних механізмів дії біологічно активних сполук та лікарських засобів, тим самим висвітлюючи актуальні питання медичної та фармацевтичної біохімії. Науковий захід популяризує сучасні експериментальні дослідження, які розкривають біохімічні процеси у функціонуванні організму людини та у розкритті патогенетичних аспектів діагностики, лікування і профілактики захворювань.

Видання розраховане для широкого кола науковців та практичних фахівців у галузі знань «Охорона здоров'я», а також для усіх охочих, які зацікавлені у розвитку експериментальних наукових проєктів.

**УДК 615**

**ББК 52.8**

© Національний фармацевтичний університет, 2021

## ДОДАТОК А



Науково-практична конференція з міжнародною участю «Актуальні питання експериментальної та клінічної біохімії»  
(01 жовтня 2021 р., Харків, Україна)

metabolism disorders. In addition, supplementation of some amino acids potentiates this activity. Thus, the lipid-lowering action depends on some possible mechanisms, such as, the inhibition of free radical processes, enhancing lipid utilization by activating the transport of fatty acids into mitochondria enhancing beta oxidation, stimulate lipolysis activity, and upregulate the adipocytes genes expression which increases the lipids to prevent the oxidation of LDL, etc.

**Conclusions.** The analysis of our experiments' results allows us to conclude that a high content of flavonoids, phenolic acids, hydroxycinnamic acids, etc. and, also amino acid supplementation, revealed hypoglycemic and hypolipidemic action, targeting for correction or prevention of DM2 metabolic disorders.

### ВПЛИВ НАДФІЗІОЛОГІЧНИХ ДОЗ АСКОРБІНОВОЇ КИСЛОТИ ТА ХОЛЕКАЛЬЦИФЕРОЛУ ОКРЕМО ТА В КОМБІНАЦІЇ НА ОБМІН ФОСФАТІВ У ЩУРІВ

Литкін Д.В., Подольський І.М., Погуляй А.О.

Національний фармацевтичний університет, Харків, Україна

*d.v.lytkin@gmail.com*

**Вступ.** Пандемія коронавірусної хвороби 2019 (COVID-19) підкреслює важливість використання основних нутрієнтів, особливо тих, що мають імуномодуючу дію та підтримують природний імунний захист організму в разі тієї чи іншої вірусної інфекції. Навіть у нинішньому контексті доступності вакцин діада «стан харчування – імунна відповідь» для окремого індивіда залишається важливою, оскільки ефективність профілактики/лікування багато в чому залежить від індивідуальної реакції на перебіг вірусного захворювання. Саме виходячи з цих міркувань у багатьох протоколах лікування пацієнтів з COVID-19, незважаючи на високу динаміку перегляду медичної документації з урахуванням нових клінічних даних, надійно закріпилося комбіноване застосування препаратів аскорбінової кислоти та холекальциферолу в надфізіологічних дозах. Проте, враховуючи багатогранний та потужний вплив цих нутрієнтів, особливо холекальциферолу, на обмін речовин, постає питання безпеки застосування такої комбінації протягом тривалого часу. До речі, до теперішнього часу цей аспект достеменно вивчено не було.

**Мета дослідження.** Метою даного етапу дослідження було вивчення впливу багаторазового внутрішньошлункового введення високих доз вітамінів С та D окремо та в комбінації на концентрації фосфатів у крові та сечі щурів.

**Матеріали та методи.** Дослідження проводили на 48 щурах (аутбредні самці), рандомізованих на 6 дослідних груп (по 8 тварин у кожній): контрольні

## ДОДАТОК А



Науково-практична конференція з міжнародною участю «Актуальні питання експериментальної та клінічної біохімії»  
(01 жовтня 2021 р., Харків, Україна)

та дослідні групи, що одержували окремо вітамін С 200 мг/кг, вітамін D 1000 МО/кг, кальцій 2500 мг/кг та різні їх комбінації. Внутрішньошлункове введення препаратів здійснювали щодоби впродовж 2 тижнів. Наприкінці експерименту у тварин збирали добову сечу в метаболічних клітках і відбирали кров для отримання сироватки. У зразках біологічних рідин визначали загальний вміст фосфатів реакцією з молібденовою кислотою за допомогою стандартного біохімічного набору реагентів на напівавтоматичному біохімічному аналізаторі MapLabPlus. Результати опрацьовували статистично.

**Отримані результати.** Окреме введення вітамінів або розчинника в еквівалентних концентраціях не призвело до зміни концентрації фосфатів у крові та сечі щурів. На тлі комбінованого застосування вітамінів С та D (у т.ч. у комбінації з кальцієм) спостерігалось достовірне зростання (на 15,5-20,8%) концентрації фосфатів як у сечі, так і в сироватці крові. Отримані результати, ймовірно, свідчать про посилення вивільнення фосфатів з кісткового депо в кров та подальшу екскрецію з сечею, що за довготривалого впливу може провокувати патологічну демінералізацію кісткової тканини.

**Висновки.** Застосування високих доз аскорбінової кислоти та холекальциферолу може провокувати посилене виведення фосфатів із організму, що необхідно враховувати в терапевтичних та профілактичних схемах, які включають їх одночасне високодозове застосування, зокрема лікування та профілактика коронавірусної хвороби.

#### HEPATOPROTECTIVE EFFECT OF BEARBERRY LEAVES EXTRACTS UNDER DEXAMETHASONE INDUCED INSULIN RESISTANCE IN RATS

**Matar Mazen**

Benta Pharma Industries, Beirut, Lebanese Republic

*annabk2014@gmail.com*

**Introduction.** The cause of diabetes mellitus type 2 (DM2) is more often relative insulin deficiency, when the production of the hormone may be decreased, or may increase, but at the same time there is a pronounced resistance of cells to insulin. DM2 is one of the most common pathological conditions in the world that is why the search for new approaches for its treatment and prophylaxis is one of the important tasks of modern medicine. DM2 is a socially significant disease due to both its high prevalence and the development of severe complications.

**Aim.** The present study was undertaken to evaluate hepatoprotective activity of bearberry leave alcohol extracts enriched with arginine and cysteine under dexamethasone-induced insulin resistance (IR) in rats.



## ДОДАТОК Б

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ  
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ



# СЕРТИФІКАТ №600

Цим засвідчується, що

*Погурляк А.О.*

брав(ла) участь у роботі Науково-практичної конференції  
з міжнародною участю

ВІДКРИВАЄМО НОВЕ СТОРІЧЧЯ:

*здодутки та перспективи,*

присвяченої 100-річчю Національного фармацевтичного університету  
16 Вересня 2021 р., м. Харків, Україна

Ректор НФаУ,  
д. фарм. н., проф.

Проректор з НПР,  
д. фарм. н., проф.



Алла КОТВИЦЬКА

Інна ВЛАДИМИРОВА

ДОДАТОК Б



Науково-практична конференція  
з міжнародною участю

# ВІДКРИВАЄМО НОВЕ СТОРІЧЧЯ: *здобутки та перспективи,*

присвячена 100-річчю Національного  
фармацевтичного університету

## ДОДАТОК Б

**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я  
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ**

**«ВІДКРИВАЄМО НОВЕ СТОРІЧЧЯ:  
ЗДОБУТКИ ТА ПЕРСПЕКТИВИ»**

**Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю,  
присвяченої 100-річчю Національного фармацевтичного університету**

**10 вересня 2021 р.  
м. Харків**

**Харків  
НФаУ  
2021**

## ДОДАТОК Б

## ВІДКРИВАЄМО НОВЕ СТОРІЧЧЯ: ЗДОБУТКИ ТА ПЕРСПЕКТИВИ

УДК 615.1 (06)

С 89

**Редакційна колегія:****Головний редактор:** проф. А. А. Котвіцька**Заступник редактора:** проф. В. П. Черних**Відповідальні секретарі:** проф. І. М. Владимірова, проф. Н. М. Кононенко**Члени редакційної ради:** Є. А. Борко, І. В. Зупанець, І. О. Сурікова, Н. М.

Смєлова

*Регістраційне посвідчення УкрІНТЕІ № 54 від 31.01.2019 р.*

**Відкриваємо** нове сторіччя: здобутки та перспективи: матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю, присвяченої 100-річчю Національного фармацевтичного університету, м. Харків, 10 вересня 2021 р. / редкол. : А. А. Котвіцька та ін. – Харків : НФаУ, 2021. – 770 с.

Збірник містить матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю, присвяченої 100-річчю Національного фармацевтичного університету «Відкриваємо нове сторіччя: здобутки та перспективи», в яких представлено сучасний стан та актуальні питання розвитку наукових напрямів фармацевтичного сектора галузі охорони здоров'я: конструювання, синтез і модифікація біологічно активних сполук та створення на їх основі лікарських субстанцій; сучасні аспекти розробки та промислового виробництва лікарських, косметичних засобів і добавок дієтичних, госпітальна фармація; біофармацевтичні аспекти створення екстемпоральних лікарських засобів, удосконалення складу і технології алопатичних і гомеопатичних лікарських засобів; сучасний стан та перспективи використання лікарських рослин і розробки фітотерапевтичних засобів; фармацевтичний аналіз, стандартизація та організація виробництва лікарських засобів; фармацевтична та медична біотехнологія, нанотехнології у фармації; організація та економіка у фармації, менеджмент та маркетинг у фармації, фармакоекономіка на етапах створення, реалізації та застосування лікарських засобів; механізми патологічних процесів та їх фармакологічна корекція; клінічна фармація: від експериментальної розробки лікарських засобів до стандартизації фармацевтичної допомоги; соціальна фармація; фармацевтична освіта в Україні.

Для широкого кола наукових та практичних працівників фармації та медицини.

Редакційна колегія не завжди поділяє погляди авторів статей.

Автори опублікованих матеріалів несуть повну відповідальність за підбір, точність наведених фактів, цитат, економіко-статистичних даних, власних імен та інших відомостей. Матеріали подаються мовою оригіналу.

УДК 615.1 (06)

© НФаУ, 2019

## ДОДАТОК Б

## СЕКЦІЯ 8

до зростання вмісту vWF у сироватці крові на 10.4%,  $p < 0,05$  та 15.2%,  $p < 0,05$  відповідно. Водночас лише експериментальна терапія метформіном сприяла достовірному зниженню vWF на 9.5%,  $p < 0,05$  порівняно з групою С.

Отже, використання метформіну при ЦД2, у тім числі ускладненому геморагічним ураженням мозку, має переваги перед периндоприлом у відношенні до проявів діабет-асоційованої ендотеліальної дисфункції.

**Висновки.** 1. Геморагічне ураження головного мозку за умов ЦД2 виявляє тенденцію до посилення виразності проявів ендотеліальної дисфункції спричиненої стрептозототин-нікотинамід-індукованим цукровим діабетом у щурів. 2. За умов експериментального ЦД2 ускладненого інтрацеребральним крововиливом периндоприл знижує рівні кінцевих продуктів глікування у сироватці крові, проте не впливає на глікемію та рівні ендотеліну-1 і фактора Вілебранда. 3. Метформін пригнічує явища карбонільного стресу, а також покращує як глікемічний статус, так і функцію ендотелію у щурів з ЦД2 та геморагічним ураженням головного мозку. 4. Метформін і периндоприл не чинять впливу на прояви гіпергомоцистемії, які спричиненні цукровим діабетом.

#### ВПЛИВ КОМБІНОВАНОГО ВИСОКОДОЗОВОГО ЗАСТОСУВАННЯ ПРЕПАРАТІВ ВІТАМІНІВ С ТА D НА КАЛЬЦІЙ-КРЕАТИНІНОВЕ СПІВВІДНОШЕННЯ В ДОБОВІЙ СЕЧІ ЛАБОРАТОРНИХ ЩУРІВ

Литкін Д.В., Погуляй А.О., Подольський І.М.

Національний фармацевтичний університет, Харків, Україна  
d.v.lytkin@gmail.com

**Вступ.** В умовах перебігу світової пандемії COVID-19 та виникнення нових мутантних варіантів вірусу SARS-CoV-2 пошук ефективних заходів терапії та профілактики цього захворювання не втрачає актуальності. Одним з методів лікування, що віддзеркалений у багатьох рекомендаціях та протоколах надання медичної допомоги при COVID-19, є застосування аскорбінової кислоти та холекальциферолу в достатньо високих надфізіологічних дозах. Разом з тим, високодозове застосування цих вітамінів протягом тривалого часу може спричинити небажані ефекти, особливо з боку видільної системи через порушення регуляції виведення та реабсорбції кальцію та зміни рН сечі.

**Мета дослідження.** Вивчення показника кальцій-креатинінового співвідношення в добовій сечі лабораторних щурів як параметра контролю передозування вітаміну D та екскреції кальцію.

**Матеріали та методи.** Дослідження проводили на 48 щурах самцях, розподілених на 6 рівних груп (контрольні та дослідні групи вітаміну С 200 мг/кг + вітамін D 1000 МО/кг з/без кальцію 2500 мг/кг).

Після 14 днів перорального введення тест-зразків у тварин збирали добову сечу в метаболічних клітках і аналізували на вміст креатиніну та кальцію. Аналіз проводили за допомогою стандартних біохімічних наборів реагентів (о-крезолфталейновий метод та метод Яффе) на напівавтоматичному біохімічному аналізаторі MapLabPlus. Результати опрацьовували статистично.

**Отримані результати.** Окреме введення вітамінів або розчинника в еквівалентних концентраціях не призводило до зміни досліджуваного параметра. На тлі комбінованого

## ДОДАТОК Б

### ВІДКРИВАЄМО НОВЕ СТОРІЧЧЯ: ЗДОБУТКИ ТА ПЕРСПЕКТИВИ

застосування вітамінів С та D (у т.ч. у комбінації з кальцієм) спостерігалось вірогідне зростання вмісту кальцію в сечі щурів разом з практично незмінним вмістом креатиніну, що відповідно призводило до статистично значущого зростання кальцій-креатинінового співвідношення.

**Висновки.** Лікарські засоби, що містять кальцій та вітамін D, за умов комбінованого застосування з вітаміном С здатні призводити до зростання кальцій-креатинінового співвідношення сечі, що може свідчити про порушення регуляції екскреції кальцію.

### ВПЛИВ КРІОКОНСЕРВОВАНИХ ЯДРОВІСНИХ КЛІТИН КОРДОВОЇ КРОВІ ЛЮДИНИ НА СПІВВІДНОШЕННЯ ТИПІВ ЛЕЙКОЦИТІВ КРОВІ У СТАРИХ ЩУРІВ

Ломако В. В.

Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України, Харків, Україна  
victoria0regia@gmail.com

**Вступ.** Кріоконсервовані клітинні препарати фетоплацентарного походження, складові кордової крові та стовбурові клітини мають низьку імуногенність, високий регенеративний потенціал і широко використовуються у клінічній практиці, зокрема у геріатрії та геронтології. Старіючий організм більш вразливий до дії ендо- та екзогенних факторів, у тому числі й до ліків, оскільки змінюється їх взаємодія на різних етапах і фармакокінетичної і фармакодинамічної фаз, що збільшує частоту побічних реакцій і непередбачуваність ефектів лікарських речовин.

Репопуляційна здатність фетальних кровотворних клітин у рази вища за таку клітин кісткового мозку дорослої людини. Ще у 1997 році E. D. Zanjani і співавтори висловили припущення, що ембріональні стовбурові кровотворні клітини здатні трансформуватися в регіонарні стовбурові клітини і бути джерелом для відновлення всіх пошкоджених органів. Кріоконсервовані ядровісні клітини кордової крові (ЯВК КК) людини за популяційним складом CD45<sup>+</sup>-клітин (nucleated cells) демонструють високий рівень збереження і життєздатності CD34<sup>+</sup>-клітин (stem cells), а також лімфоцитів і моноцитів після розморожування і успішно використовуються при патологічних станах, які супроводжуються порушеннями роботи системи крові.

Але особливості відповідних реакцій систем організму людини і тварин на введення компонентів кордової крові як ксено-, так алло-походження, зокрема ЯВК КК дотепер повністю не визначено, особливо за умов старіння.

Стан системи крові та її високоспеціалізованих клітин лейкоцитів багато в чому визначає рівень адаптивних реакцій організму, оскільки кожен тип лейкоцитів крові виконує певну унікальну функцію (захисну, трофічну, тригерну, регуляторну, регенеративну та ін.), їх кількісно-якісне співвідношення у значній мірі відображає практично будь-які зміни в організмі ссавців, вираженість яких залежить від рівня реактивності організму.

**Мета дослідження.** Вивчення стану лейкоцитів крові у старих щурів після внутрішньочеревної ін'єкції кріоконсервованих ЯВК КК людини.

**Матеріали та методи.** Робота проведена на безпородних білих щурах самцях 18-місячного віку, які до початку експерименту утримувалися в умовах віварію за природного світлового режиму на стандартному раціоні *ad libitum*.



## ДОДАТОК В



Міністерство  
охорони здоров'я  
України

Національний  
фармацевтичний  
університет

Цим засвідчується, що

**Pohuliai A. O., Lytkin D. V.,  
Podolsky I. M.**

брав(ла) участь у роботі II Всеукраїнської  
науково-практичної конференції  
з міжнародною участю

**YOUTH  
PHARMACY  
SCIENCE**

СЕРТИФІКАТ

Ректор НФаУ,  
д. фарм. н., проф.



Алла КОТВИЦЬКА

7-8 грудня 2021 р.  
м. Харків  
Україна

## ДОДАТОК В

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ  
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

**YOUTH PHARMACY SCIENCE**

МАТЕРІАЛИ  
II ВСЕУКРАЇНСЬКОЇ НАУКОВО-ПРАКТИЧНОЇ  
КОНФЕРЕНЦІЇ З МІЖНАРОДНОЮ УЧАСТЮ

7-8 грудня 2021 року  
м. Харків

Харків  
НФаУ  
2021



## ДОДАТОК В

УДК 615.1

**Редакційна колегія:** проф. Котвіцька А. А., проф. Владимірова І. М.**Укладачі:** Сурікова І. О., Литкін Д. В., Боднар Л. А., Куриленко Ю. Є.,  
Смєлова Н. М., Чорноволенко К. В.

Youth Pharmacy Science: матеріали II Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю (7-8 грудня 2021 р., м. Харків). – Харків: НФаУ, 2021. – 820 с.

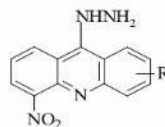
Збірка містить матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції «Youth Pharmacy Science», які представлені за пріоритетними напрямками науково-дослідної роботи Національного фармацевтичного університету. Розглянуто теоретичні та практичні аспекти синтезу біологічно активних сполук і створення на їх основі лікарських субстанцій; стандартизації ліків, фармацевтичного та хіміко-технологічного аналізу; вивчення рослинної сировини та створення фітопрепаратів; сучасної технології ліків та екстемпоральної рецептури; біотехнології у фармації; досягнень сучасної фармацевтичної мікробіології та імунології; доклінічних досліджень нових лікарських засобів; фармацевтичної опіки рецептурних та безрецептурних лікарських препаратів; доказової медицини; сучасної фармакотерапії; соціально-економічних досліджень у фармації, маркетингового менеджменту та фармакоекономіки на етапах створення, реалізації та використання лікарських засобів; управління якістю у галузі створення, виробництва й обігу лікарських засобів; інформаційних технологій у фармації та медицині; основ педагогіки та психології; суспільствознавства; філології.

УДК 615.1

© НФаУ, 2021

## ДОДАТОК В

Секція 1  
«СИНТЕЗ ФІЗІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН»



1-3,

where 1. R=H; 2. R=2-OCH<sub>3</sub>; 3. R=2-Cl

**Materials and methods.** The objects of our research – 5-nitro-9-hydrazinoacridine derivatives, which were synthesized at the department of medical chemistry of National University of Pharmacy.

**Results and discussion.** The prognosis was carried out using free online software pkCSM developed by the University of Cambridge. According to the results obtained the 5-nitro-9-hydrazinoacridine derivatives do not cause skin sensitization, are not hERG I inhibitor and are hERG II inhibitor. This indicates that the investigated substances probably are not allergenic and may be cardiotoxic with probability 50%. Results of computer prognosis showed that 5-nitro-9-hydrazinoacridine 1 are not hepatotoxic substance. Introduction in the 2 position of acridine cycle chlor or methoxy substituent leads to hepatotoxicity.

**Conclusions.** So, investigated 5-nitro-9-hydrazinoacridine derivatives are interesting objects for further research.

#### THE EFFECT OF THE COMBINED USE OF VITAMINS C AND D ON THE MICROSCOPIC COMPOSITION OF RATS' URINE

Pohuliai A. O., Lytkin D. V., Podolsky I. M.

National University of Pharmacy, Kharkiv, Ukraine

illya.podolsky@nuph.edu.ua

**Introduction.** The year 2019 witnessed the advent of a new severe acute respiratory syndrome coronavirus (SARS-CoV-2) that causes coronavirusdisease 19 (COVID-19). The COVID-19 pandemic has spurred renewed interest in vitamin D to address viral replication and hyperinflammation that have a major role in the pathogenesis of severe COVID-19. The beneficial effects of vitamin D in COVID-19 were attributed to be mediated through its multiple actions on the immune system. Calciferol is known to enhance the production of various anti-microbial peptides by the immune cells and modulates the immune system according to the internal milieu. It reduces the dysregulated production of self-damaging pro-inflammatory cytokines and promotes the expression of anti-inflammatory cytokines by immune cells. The dynamic role of vitamin D can be of immense value in the context of immune dysfunction observed in COVID-19 patients with cytokine storm and acute respiratory distress syndrome.

Ascorbic acid represents an appealing option for clinicians to utilize in the context of the global COVID-19 pandemic due to its proposed clinical efficacy, relative safety, and low cost. Due to its known antioxidant effects and role in enhancing immune function, vitamin C was assumed to have a beneficial impact on COVID-19. This is mainly *via* supporting lymphocyte activity, stimulating interferon- $\alpha$  production, reducing inflammation, and improving endothelial function.

## ДОДАТОК В

Всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю  
«YOUTH PHARMACY SCIENCE»

Considering all beneficial effects of vitamins D and C on COVID-19, most guidelines recommend these drugs for the treatment, especially in severe cases. However, the doses are very high. Since it is "*sola dosis facit venenum*", the side effects are not unexpected. Calciferol is very unlikely to cause severe symptoms of toxicity right away, and symptoms may take months or years to show up. High doses of vitamin D can cause hypercalcemia without toxicity symptoms but can also cause toxicity symptoms without hypercalcemia. Vitamin C is likely safe for most people. However, it is well known that large doses of ascorbic acid may cause acidification of the urine that promotes stone formation in the urinary tract. Thus, special care should be taken when using high doses of the above-mentioned vitamins, especially when they are used together, which is very often observed during the COVID-19 treatment. Even though side effects are registered in clinical practice, no data from animal experiments were found regarding the safety of the simultaneous use of high doses of vitamins C and D. This emphasizes the necessity of corresponding experiments.

**Aim.** The study of rats' urine microscopy under the conditions of oral administration of high doses of vitamins C and D for determination of the type of crystalline calculus.

**Materials and methods.** The studies were carried out on 60 male rats, divided into 6 equal groups (controls and experimental groups of vitamin C 200 mg/kg + vitamin D 1000 IU/kg with/without calcium 2500 mg/kg). After 14 days of oral administration, 24-hour urine samples were collected in metabolic cages, urine pH was analyzed by pH meter pH-150MI, urine microscopy was performed without staining by microscope «Granum L3003» in optical magnification 250x and 400x. The type of salt that formed the crystal was determined by the form; if necessary, microchemical reactions were used.

**Results and discussion.** Separate administration of active substances did not lead to changes in microscopic view of rats' urine, crystals corresponded to neutral and slightly alkaline urine, but rats, which were administrated vitamin C, have a little decreased urine pH. Under the combined administration of vitamins C and D or vitamin D and calcium combination, it was observed the significant increasing of crystals in urine, which were represented mainly by amorphous phosphates and calcium oxalate. Also it caused significant changes in urine pH. It should be noted that the increase in the number of crystals did not correlate with calcium intake, but was caused precisely by high doses of vitamin C and D.

**Conclusions.** High-dose use of vitamins C and D for a long time obviously leads to a decrease in the pH of urine and an increase in the intake of calcium in the primary urine. This, in turn, causes an increased formation of insoluble calcium salts, which are not absorbed. Thus, combination therapy with these drugs has a high risk of provoking the development of urolithiasis.

### SYNTHESIS AND PHYSICO-CHEMICAL PROPERTIES OF ESTERS OF 2-(4-R-5-(5-BROMOTHIOPHEN-2-YL)-4H-1,2,4-TRIAZOL-3-YLTHIO) ACETIC ACIDS

Salionov V. O., Vasylyev D. A., Novik Y. V.

Scientific supervisor: Aleksandrova K. V.

Zaporizhia State Medical University, Zaporizhia, Ukraine

salionov.88@ukr.net

**Introduction.** Modern medicines must have certain characteristics, one of which is low toxicity and high efficacy. Thus, in recent decades, the attention of scientists has been attracted by

## ДОДАТОК Г



Міністерство  
охорони здоров'я  
України

Національний  
фармацевтичний  
університет



Цим засвідчується, що

Березняк О. О., Погуляй  
А. О., Литкін Д. В.,  
Галузінська Л. В.  
Науковий керівник:  
Подольський І. М.

брав(ла) участь у роботі II Всеукраїнської  
науково-практичної конференції  
з міжнародною участю

**YOUTH  
PHARMACY  
SCIENCE**

СЕРТИФІКАТ

Ректор НФаУ,  
д. фарм. н., проф.



Алла КОТВИЦЬКА

7-8 грудня 2021 р.  
м. Харків  
Україна

## ДОДАТОК Г

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ  
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

**YOUTH PHARMACY SCIENCE**

МАТЕРІАЛИ  
II ВСЕУКРАЇНСЬКОЇ НАУКОВО-ПРАКТИЧНОЇ  
КОНФЕРЕНЦІЇ З МІЖНАРОДНОЮ УЧАСТЮ

7-8 грудня 2021 року  
м. Харків

Харків  
НФаУ  
2021

## ДОДАТОК Г

УДК 615.1

**Редакційна колегія:** проф. Котвіцька А. А., проф. Владимірова І. М.  
**Укладачі:** Сурікова І. О., Литкін Д. В., Боднар Л. А., Куриленко Ю. Є.,  
Смєлова Н. М., Чорноволєнко К. В.

Youth Pharmacy Science: матеріали II Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю (7-8 грудня 2021 р., м. Харків). – Харків: НФаУ, 2021. – 820 с.

Збірка містить матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції «Youth Pharmacy Science», які представлені за пріоритетними напрямками науково-дослідної роботи Національного фармацевтичного університету. Розглянуто теоретичні та практичні аспекти синтезу біологічно активних сполук і створення на їх основі лікарських субстанцій; стандартизації ліків, фармацевтичного та хіміко-технологічного аналізу; вивчення рослинної сировини та створення фітопрепаратів; сучасної технології ліків та екстемпоральної рецептури; біотехнології у фармації; досягнень сучасної фармацевтичної мікробіології та імунології; доклінічних досліджень нових лікарських засобів; фармацевтичної опіки рецептурних та безрецептурних лікарських препаратів; доказової медицини; сучасної фармакотерапії, соціально-економічних досліджень у фармації, маркетингового менеджменту та фармакоєкономіки на етапах створення, реалізації та використання лікарських засобів; управління якістю у галузі створення, виробництва й обігу лікарських засобів; інформаційних технологій у фармації та медицині; основ педагогіки та психології; суспільствознавства; філології.

УДК 615.1

© НФаУ, 2021

## ДОДАТОК Г

Секція 7 «СУЧАСНІ АСПЕКТИ  
НОРМАЛЬНОЇ ТА ПАТОЛОГІЧНОЇ ФІЗІОЛОГІЇ ЇЇ БІОХІМІЧНІ МЕХАНІЗМИ В МЕДИЦИНІ ТА ФАРМАЦІЇ»

Вивчення харчового статусу людини чи однорідного за режимом праці та харчуванням колективу проводиться за цілим комплексом показників, серед них виділяють:

- соматоскопічні: при загальному огляді тіла визначають конституційний тип (нормо-, гіпо-, гіперстенік), гармонійність статури, деформації скелета, ребер, пласкостопість, викривлення нижніх кінцівок (як ознаки перенесеного рахіту), вгодованість (норма, худоба, ожиріння), блідість, синюшність шкіри, слизових оболонок, нігтів, їх деформації, ломкість як ознак білкової, вітамінної, мікроелементної недостатності у харчуванні. При огляді слизових оболонок очей можна виявити ксероз, кератомаліцію, блефарит, кон'юнктивіт, світлобоязнь як ознак гіповітамінозу А та інші.
- клінічні: визначення симптомів хвороб аліментарного походження (захворювань печінки, жовчного міхура, подагри, гіпо-, авітамінозів та ін.).
- біохімічні: показники крові і сечі, гематологічні та інші показники харчового статусу окремої людини або колективу, який характеризується однаковим харчуванням і режимом праці, може бути вивчений і оцінений також шляхом порівняння енергетичних витрат організму, зумовлених вагою, напруженістю виконуваної роботи і розрахованих на їх основі потреб у харчових речовинах і лабораторними дослідженнями кількості та якості компонентів добового харчового раціону. Останніми роками діагностичного значення під час вивчення харчового статусу набуває оцінка мікробіоценозу кишечника, стан якого прямо корелює з фактичним харчуванням: збалансованістю у раціоні білків, вуглеводів, харчових волокон, вітамінів, мінералів, а також наявністю у харчуванні пробіотичних і пребіотичних компонентів.

**Висновки.** Вивчення харчового статусу можуть розглядатися як незалежні прогностичні чинники ризику розвитку хронічних неінфекційних захворювань. Можливість модулювати перебіг захворювання залежно від типу порушення харчового статусу дасть змогу своєчасно впроваджувати необхідні корективні заходи, що у свою чергу підвищить комплаєнтність пацієнтів до виконання призначень лікарів. У практичній медицині вивчення харчової поведінки є одним з важливих профілактичних напрямів, який дасть змогу підвищувати якість лікування хворих та запобігатиме розвитку ускладнень за рахунок призначення раціонального персоналізованого харчування. На сучасному етапі розвитку медицини залишаються недостатньо вивченими питання диференційного підходу у реабілітації осіб з надмірною масою тіла або ожирінням та іншими виявами метаболічного синдрому.

#### ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ РОЗВИТКУ НЕБАЖАНИХ ПОБІЧНИХ ЕФЕКТІВ ПРИ ПРОФІЛАКТИЦІ КОРОНОВІРУСНОЇ ХВОРОБИ ПРЕПАРАТАМИ ВІТАМІНІВ С ТА D

Березняк О. О., Погуляй А. О., Литкін Д. В., Галузінська Л. В.

Науковий керівник: Подольський І. М.

Національний фармацевтичний університет, Харків, Україна

illya.podolsky@muph.edu.ua

**Вступ.** На сьогоднішній день вакцини є найкращою превентивною зброєю у запобіганні COVID-19 та боротьбі з пандемією. Однак швидкий розвиток та розповсюдження штамів вірусу з мутаціями у спайковому білку, головній мішені вакцин, вироблених на сьогоднішній



## ДОДАТОК Г

Всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю  
«YOUTH PHARMACY SCIENCE»

день, посилив страх перед можливою втратою їх ефективності. Таким чином, стає все більш важливим пошук терапевтичних стратегій, які можуть запобігти зараженню SARS-CoV-2 та пом'якшити перебіг COVID-19 незалежно від штаму вірусу. У цьому аспекті важливе значення мають лікарські засоби та дієтичні добавки, що містять вітаміни С та D.

Антиоксидантні властивості аскорбінової кислоти багаторазово доведені при станах, що супроводжуються потужним оксидативним стресом (тяжкі інфекції, сепсис, гострий респіраторний дистрес-синдром). Отже, у світлі зазначеної ефективності, відносної безпеки та низької вартості аскорбінової кислоти є привабливим для дослідників і клініцистів засобом для використання в контексті пандемії COVID-19. Щодо вітаміну D, то існує велика кількість свідчень, що його дефіцит або недостатність у пацієнта на момент зараження негативно впливають на тяжкість та тривалість захворювання.

Але слід зауважити, що для профілактики зараження та лікування COVID-19 лікарі часто призначають препарати вітамінів С та D у надфізіологічних дозах, що може провокувати розвиток небажаних ефектів, особливо при одночасному їх застосуванні. Наприклад, при застосуванні у високих дозах аскорбінової кислоти значно знижує рН сечі, що сприяє утворенню конкрементів. Вітамін D при високодозовому застосуванні, окрім іншого, призводить до гіперкальціємії та посиленого виділення кальцію їх сечею, що в свою чергу підвищує ризик розвитку сечокам'яної хвороби нирок. І це тільки один з аспектів впливу на екскреторну систему організму. Цікаво, що за наявності накопиченого в цьому контексті клінічного досвіду, результатів експериментальних досліджень, що вивчали безпеку високодозового одночасного застосування вітамінів С та D у тварин, опубліковано не було. Це підкреслює актуальність проведення таких досліджень на шурах.

**Мета дослідження.** Дослідити вплив комбінованого застосування препаратів вітамінів С та D (в тому числі й в комбінації з кальцієм) на рівень сечової кислоти в крові та сечі здорових шурів.

**Матеріали та методи.** Експериментальне дослідження виконано на 48 білих аутбредних шурах-самцях віком 4 місяці. Тварин розподілили у 6 рівних груп (контрольні та дослідні групи вітаміну С 200 мг/кг + вітаміну D 1000 МО/кг з/без кальцію 2500 мг/кг). Після 14-денного перорального застосування за допомогою метаболічних кліток збирали 24-годинні зразки сечі та відбирали зразки крові. Вміст сечової кислоти в зразках сечі та сироватки крові визначали фотометрично на напівавтоматичному біохімічному аналізаторі MapLab Plus (BSI, Італія) за допомогою стандартного комерційного набору реагентів «HP017.01» (ТОВ НВП «Філісіт-Діагностика», Україна), принцип дії якого базується на реакції з фосфорновольфрамним реактивом. Результати були оброблені статистично.

**Результати дослідження.** Результати проведеного експерименту свідчать, що ані під дією досліджуваних засобів при монозастосуванні, ані в комбінаціях у тварин не спостерігалось істотної гіперурикемії. Проте під дією комбінацій вірогідно збільшувався вміст сечової кислоти в сечі на 14,3% (на тлі застосування вітамінів С та D) і на 17,6% (на тлі застосування вітамінів С та D у комбінації з кальцієм) у порівнянні з інтактними тваринами. Таке збільшення, ймовірно, пов'язано зі збільшенням утворення та виведення нерозчинних конкрементів на основі уратів, що підтверджувалося мікроскопічно.

**Висновки.** Комбіноване застосування високих доз вітамінів С та D сприяє розвитку істотної гіперурикозурії у здорових шурів. За відсутності суттєвого впливу на вміст сечової кислоти у сироватці крові, цей факт може свідчити на користь її посиленої екскреції. В



## ДОДАТОК Г

Секція 7 «СУЧАСНІ АСПЕКТИ  
НОРМАЛЬНОЇ ТА ПАТОЛОГІЧНОЇ ФІЗІОЛОГІЇ Й ЇХ БІОХІМІЧНІ МЕХАНІЗМИ В МЕДИЦИНІ ТА ФАРМАЦІЇ»

контексті COVID-19 окрім значного підвищення ризику розвитку сечокислого уролітіазу при профілактиці коронавірусної хвороби, посилене її виведення з організму може негативно впливати й на перебіг самого захворювання. Це пов'язано з тим, що серед пацієнтів з COVID-19, які потребують госпіталізації, низькі рівні сечової кислоти в сироватці є поширеними та корелюють з тяжкістю захворювання та з прогресуванням дихальної недостатності, що вимагає інвазивної ШВЛ.

### БІОХІМІЧНІ МЕХАНІЗМИ ДІЇ МЕЛАТОНІНУ

Бері Закарія, Хусні Яссін

Науковий керівник: Кравченко В. М.

Національний фармацевтичний університет, Харків, Україна

kvn5135@gmail.com

**Вступ.** Актуальною проблемою для мешканців нашої планети є порушення режиму сну. Внаслідок даної патології може виникати багато неприємних проявів у вигляді зменшення рівня продуктивності життя, погіршення загального стану організму, зниження імунітету, порушень у роботі серцево-судинної системи. А «відповідальним» за ці та багато інших порушень можна вважати мелатонін. Його ще називають гормоном життя або довговічності.

**Мета дослідження.** Провести аналіз літературних даних щодо досліджень з вивчення біологічних функцій гормону мелатоніну.

**Матеріали та методи.** Вітчизняні та зарубіжні наукові публікації щодо експериментальних досліджень впливу мелатоніну на функціонування організму людини.

**Результати дослідження.** Меланонін – це біогенний амін, один із нейрогормонів, які синтезуються в пінеалоцитах епіфізу або шишкоподібної залози та в деяких периферичних тканинах: ШКТ, сітківці тощо. Меланонін синтезується з амінокислотами триптофану; спочатку у результаті гідроксилування і декарбоксілювання утворюється серотонін. Після ацетилювання й метилювання останнього утворюється мелатонін. Різні етапи цього синтезу регулюються норадреналіном та адреналіном через аденілатциклазний механізм та активацію протеїнкінази. Безпосереднім стимулятором підвищення швидкості синтезу та секреції цього гормону є норадреналін. Незамінна  $\alpha$ -амінокислота – трип тофан за дії сонячних променів перетворюється у серотонін, а останній вже вночі – у мелатонін. Після синтезу в епіфізі мелатонін потрапляє до спинномозкової рідини. Таким чином, щоб усі ці перетворення бути успішними, треба щоденно бути по півгодини-годині на свіжому повітрі. Кількість мелатоніну залежить від фази дня: вночі синтезується біля 70% мелатоніну в організмі. Варто сказати про те, що утворення цього гормону в організмі залежить ще від освітлення: при надмірному (денному) світлі синтез гормону знижується, а при зниженні – підвищується. Активність вироблення гормону розпочинається приблизно о 20:00 годині, а пік його концентрації, коли мелатонін виробляється у великій кількості, припадає на період від півночі до 4:00 години ранку. Саме тому важливо саме у цей час спати у темному приміщенні. В організмі дорослої людини щодня синтезується 30 мкг мелатоніну.

Вчені на сьогодні довели, що мелатонін виробляється не лише у епіфізі людини. У системі синтезу мелатоніну розглядають два компоненти: центральний – епіфіз, де синтез

**Національний фармацевтичний університет**

Факультет фармацевтичний  
Кафедра медичної хімії  
Ступінь вищої освіти магістр  
Спеціальність 226 Фармація, промислова фармація  
Освітня програма Фармація

**ЗАТВЕРДЖУЮ**  
**Завідувачка кафедри**  
**медичної хімії**

Ліна ПЕРЕХОДА  
“30” вересня 2021 року

**ЗАВДАННЯ**  
**НА КВАЛІФІКАЦІЙНУ РОБОТУ ЗДОБУВАЧКИ ВИЩОЇ ОСВІТИ**

**Аліни ПОГУЛЯЙ**

1. Тема кваліфікаційної роботи: «Експериментальне вивчення безпечності одночасного високодозового застосування аскорбінової кислоти та холекальциферолу з боку видільної системи», керівники кваліфікаційної роботи: Ілля ПОДОЛЬСЬКИЙ, д.фарм.н., доцент; Дмитро ЛИТКІН, к.біол.н., асистент кафедри біологічної хімії, затверджені наказом НФаУ від “ 18 ” березня 2022 року № 103
2. Строк подання здобувачем вищої освіти кваліфікаційної роботи: квітень 2022 р.
3. Вихідні дані до кваліфікаційної роботи: вітамін С, вітамін D, фармакобезпека, фармакологічна активність, доклінічні дослідження, фармако-токсикологічні аспекти, побічні ефекти високодозового застосування вітамінів.
4. Зміст розрахунково-пояснювальної записки (перелік питань, які потрібно розробити): провести аналіз літературних джерел, присвячених клінічному застосуванню вітамінів С та D при інфекційних захворюваннях, а також фармако-токсикологічним аспектам їх використання; експериментально дослідити вплив комбінованого високодозового застосування вітамінів С та D на клінічні параметри сечі щурів; провести мікроскопічну оцінку осаду сечі щурів на тлі комбінованого високодозового застосування вітамінів С та D; експериментально дослідити вплив комбінованого високодозового застосування вітамінів С та D на вміст кальцію, фосфору, креатиніну та сечової кислоти у сироватці крові та сечі щурів; провести гістоморфологічний аналіз стану нирок щурів на тлі комбінованого високодозового застосування вітамінів С та D.
5. Перелік графічного матеріалу (з точним зазначенням обов’язкових креслень): таблиць – 3, рисунків – 21.

6. Консультанти розділів кваліфікаційної роботи

Розділ	Ім'я, ПРИЗВИЩЕ, посада консультанта	Підпис, дата	
		завдання видав	завдання прийняв
<b>1</b>	Ілля ПОДОЛЬСЬКИЙ, доцент закладу вищої освіти кафедри медичної хімії Дмитро ЛИТКІН, асистент кафедри біологічної хімії	30.09.2021	30.09.2021
<b>2</b>	Ілля ПОДОЛЬСЬКИЙ, доцент закладу вищої освіти кафедри медичної хімії Дмитро ЛИТКІН, асистент кафедри біологічної хімії	22.10.2021	22.10.2021
<b>3</b>	Ілля ПОДОЛЬСЬКИЙ, доцент закладу вищої освіти кафедри медичної хімії Дмитро ЛИТКІН, асистент кафедри біологічної хімії	24.11.2021	24.11.2021

7. Дата видачі завдання: «30» вересня 2021 року

**КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН**

№ з/п	Назва етапів кваліфікаційної роботи	Термін виконання етапів кваліфікаційної роботи	Примітка
<b>1</b>	Підбір та вивчення інформаційних джерел для написання кваліфікаційної роботи, складання бібліографічного списку джерел інформації.	жовтень 2021 р.	<b>виконано</b>
<b>2</b>	Дослідження впливу комбінованого високодозового застосування вітамінів С та D на клінічні параметри сечі щурів при визначенні діурезу без водного навантаження.	листопад 2021 р.	<b>виконано</b>
<b>3</b>	Мікроскопічна оцінка осаду сечі щурів на тлі комбінованого високодозового застосування вітамінів С та D при визначенні діурезу без водного навантаження.	листопад-грудень 2021 р.	<b>виконано</b>
<b>4</b>	Дослідження впливу комбінованого високодозового застосування вітамінів С та D на вміст кальцію, фосфору, креатиніну та сечової кислоти у сироватці крові та сечі щурів.	грудень 2021 р.- січень 2022 р.	<b>виконано</b>
<b>5</b>	Гістоморфологічний аналіз стану нирок щурів на тлі комбінованого високодозового застосування вітамінів С та D.	січень-лютий 2022 р.	<b>виконано</b>
<b>6</b>	Статистична обробка одержаних результатів, їх узагальнення та формулювання висновків. Оформлення роботи.	березень-квітень 2022 р.	<b>виконано</b>

Здобувач вищої освіти

\_\_\_\_\_ Аліна ПОГУЛЯЙ

Керівники кваліфікаційної роботи

\_\_\_\_\_ Ілля ПОДОЛЬСЬКИЙ

\_\_\_\_\_ Дмитро ЛИТКІН

**ВИТЯГ З НАКАЗУ № 103**  
**по Національному фармацевтичному університету**  
**від 18 березня 2022 року**

Затвердити тему, керівника та рецензента кваліфікаційної роботи здобувачу вищої освіти денної форми навчання фармацевтичного факультету НФаУ 2022 року випуску:

№ з/п	Прізвище, ім'я по батькові здобувача вищої освіти	Тема кваліфікаційної роботи (українською мовою)	Тема кваліфікаційної роботи (англійською мовою)	Керівник кваліфікаційної роботи	Рецензент кваліфікаційної роботи
1.	Погуляй Аліна Олегівна	Експериментальне вивчення безпечності одночасного високодозового застосування аскорбінової кислоти та холекальциферолу з боку видільної системи	Experimental study of the safety of concomitant high-dose use of ascorbic acid and cholecalciferol for the excretory system	доц. Подольський І. М. ас. Литкін Д. В.	проф. Колісник С. В.

**ПІДСТАВА:** службова записка завідувача кафедри про затвердження теми кваліфікаційної роботи, керівника та рецензента.

*Вірно: пров. фахівець деканату*

*Н. В. Фоменко*

**ВІДГУК**

**наукового керівника на кваліфікаційну роботу ступеня вищої освіти  
магістр спеціальності 226 Фармація, промислова фармація**

**Аліни ПОГУЛЯЙ**

**на тему: «Експериментальне вивчення безпечності одночасного  
високодозового застосування аскорбінової кислоти та холекальциферолу  
з боку видільної системи»**

**Актуальність теми.** У зв'язку із поширенням нового важкого гострого респіраторного синдрому коронавірусу пошук терапевтичних стратегій, які можуть запобігти зараженню SARS-CoV-2 та пом'якшити перебіг COVID-19, стає все більш важливим. На сьогодні в структурі багатьох схем терапії та профілактики, що увійшли до складу міжнародних експертних рекомендацій уніфікованих протоколів надання медичної допомоги у пацієнтів з COVID-19, регламентовано застосування високих, надфізіологічних доз аскорбінової кислоти та кальциферолів (вітамінів С та D). За умов одночасного використання середньотерапевтичних доз вітамінів С та D лікарська взаємодія між ними не є клінічно значущою, але при значному збільшенні дози може стати потенційною причиною певних метаболічних порушень, пов'язаних з обміном і екскрецією кальцію та фосфору, зміни хімічного складу та фізико-хімічних показників сечі, надлишкового утворення неорганічного осаду сечі й, з часом, уролітіазу. Враховуючи можливі побічні ефекти при одночасному застосуванні високих дозувань вітамінів С та D, необхідно зауважити про недостатнє вивчення даного питання у науці. Обрана тематика кваліфікаційної роботи спрямована на вирішення цих питань, що визначає її актуальність.

**Практична цінність висновків, рекомендацій та їх обґрунтованість.**

Одержані результати експериментального дослідження розширюють та поглиблюють знання щодо лікарської взаємодії та фармакобезпеки

високодозового одночасного застосування вітамінів С та D (в т.ч. за додаткового нутрієнтного навантаження солями кальцію). Результати дослідження є підґрунтям для ініціації системою фармаконагляду аналізу доцільності клінічного застосування високих доз вітамінів при респіраторних інфекційних захворюваннях та перегляду фактору «користь – шкода».

**Оцінка роботи.** Кваліфікаційна робота має класичну структуру: вступ, 3 розділи (огляд літератури і 2 розділи експериментальних досліджень), висновки та список використаних літературних джерел. В роботі докладно обґрунтована актуальність теми, детально описані матеріали та методи досліджень, послідовно репрезентовані результати експерименту, а саме мікроскопічна оцінка осадів щурів, вміст кальцію, фосфору, креатиніну та сечової кислоти у сироватці крові та сечі щурів, гістоморфологічний аналіз стану нирок щурів. проведено ґрунтовний аналіз одержаних результатів та логічно сформульовані висновки. Дослідження виконані на сучасному та високому рівні, а сформульовані висновки не викликають сумнівів.

**Загальний висновок та рекомендації про допуск до захисту.** Кваліфікаційна робота Аліни ПОГУЛЯЙ виконана на високому рівні, має елементи наукової новизни, актуальні завдання та практичну значимість отриманих результатів. Кваліфікаційна робота структурована у відповідності до мети та конкретних завдань дослідження. У основних розділах чітко і послідовно описуються етапи роботи. Коректне виконання експерименту та використання поширених та сучасних точних методів і засобів дослідження забезпечило виконання поставлених у роботі завдань. За актуальністю, рівнем виконання та обґрунтованістю висновків робота відповідає вимогам, які висуваються до кваліфікаційної роботи ступеня вищої освіти і може бути рекомендована до захисту в Екзаменаційній комісії НФаУ.

Наукові керівники

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

Ілля ПОДОЛЬСЬКИЙ  
Дмитро ЛИТКІН

«15» квітня 2022 р.

**РЕЦЕНЗІЯ**

**на кваліфікаційну роботу ступеня вищої освіти магістр спеціальності  
226 Фармація, промислова фармація**

**Аліни ПОГУЛЯЙ**

**на тему: «Експериментальне вивчення безпечності одночасного  
високодозового застосування аскорбінової кислоти та холекальциферолу  
з боку видільної системи»**

**Актуальність теми.** На сьогодні в структурі багатьох схем терапії та профілактики, що увійшли до складу міжнародних експертних рекомендацій уніфікованих протоколів надання медичної допомоги у пацієнтів з COVID-19, регламентовано застосування високих, надфізіологічних доз аскорбінової кислоти та кальциферолів (вітамінів С та D). За умов одночасного використання середньотерапевтичних доз вітамінів С та D лікарська взаємодія між ними не є клінічно значущою, але при значному збільшенні дози може стати потенційною причиною певних метаболічних порушень, пов'язаних з обміном і екскрецією кальцію та фосфору, зміни хімічного складу та фізико-хімічних показників сечі, надлишкового утворення неорганічного осаду сечі й, з часом, уролітіазу. Проте, результати різних досліджень, в першу чергу клінічних, є досить суперечливими, що потребує додаткового експериментального вивчення. Отже, поглиблення знань щодо лікарської взаємодії та фармакобезпеки високодозового одночасного застосування вітамінів С та D є дуже актуальним питанням. Обрана тематика кваліфікаційної роботи спрямована на вирішення цих питань, що визначає її актуальність.

**Теоретичний рівень роботи.** Кваліфікаційна робота Аліни ПОГУЛЯЙ виконана на достатньо високому теоретичному рівні, оскільки її результати значно розширюють відомості щодо безпечності одночасного високодозового застосування препаратів, що містять аскорбінову кислоту та кальциферолу (в т.ч. за додаткового нутрієнтного навантаження солями кальцію), в аспекті порушення обміну та екскреції кальцію, фосфору та сечової кислоти.

**Пропозиції автора по темі дослідження.** В результаті проведених досліджень автором було доведено, що одночасне високодозове застосування препаратів, що містять аскорбінову кислоту та кальцифероли, може призводити до утворення погано розчинних кальційвмісних солей та інших дрібних комбінованих конкрементів в складі сечі, а також до збільшення втрат кальцію та фосфору з сечею. Виявлені в експерименті ризики виникнення небажаних ефектів одночасного високодозового застосування вітамінів С та D можуть стати підґрунтям подальших досліджень в аспекті фармакобезпеки.

**Практична цінність висновків, рекомендацій та їх обґрунтованість.**

Одержані автором результати можуть бути використані в подальших дослідженнях безпечності одночасного високодозового застосування препаратів, що містять аскорбінову кислоту та кальцифероли. Важливими є виявлені на основі одержаних результатів аспекти фармакобезпеки, а саме ризик утворення погано розчинних кальційвмісних солей та інших дрібних комбінованих конкрементів в складі сечі, збільшення втрат кальцію та фосфору з сечею та ризик ініціації літогенних процесів. Висновки логічно сформульовані на основі одержаних даних і не викликають сумнівів.

**Недоліки роботи.** Принципових зауважень щодо змісту роботи немає, проте зустрічаються поодинокі орфографічні помилки, які не впливають на зміст та загальне враження від кваліфікаційної роботи.

**Загальний висновок і оцінка роботи.** Обсяг проведених теоретичних та експериментальних досліджень дозволив Аліні ПОГУЛЯЙ вирішити всі поставлені завдання. Кваліфікаційна робота відповідає вимогам, які висуваються до кваліфікаційних робіт магістерського ступеня вищої освіти. Кваліфікаційна робота Аліни ПОГУЛЯЙ може бути рекомендована до захисту в Екзаменаційній комісії НФаУ.

Рецензент

\_\_\_\_\_

проф. Сергій КОЛІСНИК

«22» квітня 2022 р.



**ВИТЯГ**

**з протоколу засідання кафедри медичної хімії  
№ 10 від 29 квітня 2022 р.**

**ПРИСУТНІ:**

*проф.* Ліна ПЕРЕХОДА

проф. Світлана ТАРАН, доц. Вадим ЗУБКОВ, доц. Ірина СИЧ, доц. Зінаїда ЄРЬОМІНА, доц. Віталій ЯРЕМЕНКО, доц. Ілля ПОДОЛЬСЬКИЙ, доц. Наталія КОБЗАР, доц. Тетяна ТІТКО, доц. Ліна ГРІНЕВИЧ, доц. Марина РАХІМОВА, доц. Маргарита СУЛЕЙМАН, ас. Ганна ЄРЬОМІНА, ас. Олена БЕВЗ, ас. Ольга ВІСЛОУС.

**ПОРЯДОК ДЕННИЙ:**

Звіт про стан виконання кваліфікаційної роботи здобувачки вищої освіти групи Фс17(5,0д)-07 Аліни ПОГУЛЯЙ на тему: «Експериментальне вивчення безпечності одночасного високодозового застосування аскорбінової кислоти та холекальциферолу з боку видільної системи».

**СЛУХАЛИ:** доповідь здобувачки вищої освіти групи Фс17(5,0д)-07 Аліни ПОГУЛЯЙ на тему: «Експериментальне вивчення безпечності одночасного високодозового застосування аскорбінової кислоти та холекальциферолу з боку видільної системи», керівники – доцент закладу вищої освіти кафедри медичної хімії, д.фарм.н., доцент Ілля ПОДОЛЬСЬКИЙ; асистент кафедри біологічної хімії, к.біол.н. Дмитро ЛИТКІН.

**УХВАЛИЛИ:** рекомендувати кваліфікаційну роботу Аліни ПОГУЛЯЙ до офіційного захисту в Екзаменаційній комісії.

**Зав. кафедри медичної хімії,  
професор**

**Ліна ПЕРЕХОДА**

**Секретар кафедри медичної хімії,  
доцент**

**Ліна ГРІНЕВИЧ**

## НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

### ПОДАННЯ ГОЛОВІ ЕКЗАМЕНАЦІЙНОЇ КОМІСІЇ ЩОДО ЗАХИСТУ КВАЛІФІКАЦІЙНОЇ РОБОТИ

Направляється здобувачка вищої освіти Аліна ПОГУЛЯЙ до захисту кваліфікаційної роботи за галуззю знань 22 Охорона здоров'я спеціальністю 226 Фармація, промислова фармація освітньою програмою Фармація на тему: «Експериментальне вивчення безпечності одночасного високодозового застосування аскорбінової кислоти та холекальциферолу з боку видільної системи»

Кваліфікаційна робота і рецензія додаються.

Декан факультету \_\_\_\_\_ / Вікторія КУЗНЕЦОВА /

#### Висновок керівника кваліфікаційної роботи

Здобувачка вищої освіти Аліна ПОГУЛЯЙ виконала кваліфікаційну роботу на сучасному рівні. За період виконання роботи виявила високий рівень теоретичної підготовки. Під час виконання експериментальних досліджень продемонструвала високий рівень практичних навичок виконання фармакологічних дослідів та вміння обробляти одержані результати. Кваліфікаційна робота викладена послідовно та грамотно, висновки сформульовані чітко і коректно та цілком логічно витікають зі змісту роботи. Кваліфікаційна робота Аліни ПОГУЛЯЙ може бути рекомендована до захисту в Екзаменаційній комісії.

Керівники кваліфікаційної роботи

\_\_\_\_\_

Ілля ПОДОЛЬСЬКИЙ

\_\_\_\_\_

Дмитро ЛИТКІН

«15» квітня 2022 року

#### Висновок кафедри про кваліфікаційну роботу

Кваліфікаційну роботу розглянуто. Здобувачка вищої освіти Аліна ПОГУЛЯЙ допускається до захисту даної кваліфікаційної роботи в Екзаменаційній комісії.

Завідувачка кафедри  
медичної хімії

\_\_\_\_\_

Ліна ПЕРЕХОДА

«29» квітня 2022 року

Кваліфікаційну роботу захищено  
у Екзаменаційній комісії

« \_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ червня 2022 р.

З оцінкою \_\_\_\_\_

Голова Екзаменаційної комісії,

доктор фармацевтичних наук, професор

\_\_\_\_\_ /Світлана ГАРНА/