

## ВИВЧЕННЯ ВПЛИВУ АЛОПРЕПАРАТУ ПЛАЦЕНТИ НА ТИРЕОЇДНУ ФУНКЦІЮ КРОЛІВ

Малова Н. Г., Комарова І. В., Юрченко Т. М.<sup>1</sup>, Сиротенко Л. А., Бречка Н. М., Чуйкова В. І.<sup>1</sup>,  
Таранова К. С.

*ДУ «Інститут проблем ендокринної патології ім. В. Я. Данилевського АМН України», м. Харків;  
Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України, м. Харків*

Відомо, що в Україні несприятливу епідеміологічну ситуацію складають захворювання щитовидної залози, особливо гіпотиреоз — 163,7 випадків на 100 тис. населення. Це може призводити до великої кількості соціально-економічних проблем, пов'язаних як із основними захворюваннями, так і з великою кількістю побічних соматичних ускладнень. Пошуку ефективних засобів для терапевтичної корекції найбільш розповсюджених тиреопатій приділяється велика увага. Проте на сьогодні ефективної терапії гіпотиреозу не існує, і лікування зводиться до замісної терапії, засобами якої є різні варіанти лікарських форм тиреоїдних гормонів [1–3]. Однак замісна терапія не вирішує основної задачі лікування ендокринопатій — відновлення та підтримку повноцінного гормонального гомеостазу організму.

В останні роки для лікування та нормалізації різних патологічних станів людини все більш розповсюджено застосовують клітинну та тканинну трансплантацію, яка базується на використанні біопрепаратів з ало- та ксеногенних тканин та клітин ембріофетоцеллярного комплексу (ЕФПК). Перевагою використання тканинних та клітинних біопрепаратів є, при їх практично повній нешкідливості, здатність потенціювати регенерацію тканин та відновлення функції ураженого органу. Біологі-

чно активні збалансовані сполуки природного походження, які входять до їх складу, впливають на різні складові метаболізму як на клітинному рівні, так і на рівні усього організму. Це особливо актуально у зв'язку із зростанням кількості захворювань, що супроводжуються імунною та ендокринною недостатністю [4, 5].

Спектр препаратів на основі ембріональних і фетальних тканин є різноманітним. Він включає живі і консервовані клітини, різноманітні за своїм гістогенезом. Дія біопрепаратів зводиться до регуляції процесів регенерації, проліферації та диференціювання [6].

Одним з ефективних заходів тканинної терапії є використання кріоконсервованих препаратів, виготовлених з плацентарного комплексу. Відомо, що у плаценті містяться практично всі гормони: фолікулостимулюючий, лютеїнізуючий, тиреотропний гормони, соматотропін, вазопресин, окситоцин, пролактин, андрогени, естрогени, прогестерон, кортизол, інсулін, хоріонічний гонадотропін і т. д. У плаценті вони знаходяться у високих концентраціях і у фізіологічно збалансованих співвідношеннях, тому трансплантація такої тканини здатна призводити до відновлення нейроендокринних взаємовідносин в організмі реципієнта [7, 8]. Окрім того, плацента активно синтезує імунні та нейромодулятори різноманітних класів

(інтерлейкіни, цитокіни, ендорфіни, енкефаліни та ін.), застосування яких виправдано при зміненому імунному статусі хворих [9, 10].

Сукупність таких даних — як у світової медичній практиці, так і в Україні, дозволяє виділити та підкреслити актуальність і перспективність подальшої розробки

заходів клітинної та тканинної терапії біопрепаратами фетоплацентарного комплексу, зокрема, препаратами плаценти, цілого ряду тиреопатій.

Метою даної роботи було вивчення дії кріоконсервованого біопрепарату плаценти на корекцію гіпотиреозу і відновлення функції щитовидної залози в експерименті.

## МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Дія препарату плаценти кролів вивчалася на 15 кролях породи Шиншила з експериментальним гіпотиреозом, який викликали згідно з методичними рекомендаціями [11] шляхом введення мерказолілу в дозі 10 мг/кг маси тіла протягом двох місяців.

Після цього препарат відміняли і досліджували вплив підсадки кріоконсервованого фрагменту тканини плаценти. Тварини були розподілені на три групи.

*Група 1* — еутиреоїдний контроль — інтактні кролі, що знаходились в умовах, аналогічних експериментальним тваринам та отримували той самий харчовий раціон. Маніпуляції із забору крові в цій групі проводились у ті ж строки, що й для інших експериментальних груп.

*Група 2* — мерказоліловий контроль (модельний гіпотиреоз). Тварини отримували мерказоліл в дозі 10 мг/кг протягом двох місяців, після чого препарат відміняли. Контроль маси тіла кролів з корекцією доз здійснювали щотижня.

*Група 3* — тварини, у яких на фоні змодельованого гіпотиреозу здійснювалась підсадка фрагментів кріоконсервованої плаценти кроля. Імплантація препарату проводилась хірургічним шляхом через 3 доби після відміни мерказолілу. Для цього кролям на спині, в області лопатки, під місцевим новокаїновим наркозом робили підшкірну кишню, в яку вносили стерильний фрагмент кролячої плаценти із розрахунку 250 мг/кг маси тіла (800–900 мг на одну тварину). Розріз зашивався та оброблявся антисептиками. Через два тижні після операції у кролів відбирали з вушної вени зразки крові.

Подальші взяття крові проводились щомісячно.

Усі кролі знаходились в аналогічних умовах, та отримували однаковий харчовий раціон. Алгоритм забору крові у всіх експериментальних тварин був аналогічним. За впливом трансплантата на вміст тиреоїдних гормонів та тиреотропіну (ТТГ) у сироватці крові тварин спостерігали протягом трьох місяців.

Фрагменти тканин плаценти кролів масою від 1500 до 1800 мг з дотриманням правил асептики та антисептики зберігались у стерильних одноразових контейнерах фірми «Nunc» для низькотемпературного консервування при температурі  $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Кріоконсервування і зберігання контейнерів здійснювалось за технологією, розробленою в Інституті проблем кріобіології і кріомедицини НАН України [12].

Оцінку тиреоїдного профілю здійснювали за допомогою тест-наборів для імуноферментного аналізу виробництва «Алкор-Біо» (Росія) з використанням мікропланшетного імуноферментного аналізатора «Stat Fax 2100» (Awareness Technology inc., США).

Статистичну обробку отриманих даних здійснювали за допомогою параметричних методів з використанням пакета програм Statistica 6.0 (Stat Soft, США). Нормальність розподілу перемінних визначали за допомогою критерію Колмогорова-Смірнова. Для порівняння показників, які характеризуються нормальним розподілом, застосовували непарний *t* критерій Стьюдента. Дані наведені як середнє значення  $\pm$  похибка середньої ( $\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$ ). Різниця вважалася вірогідною при  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Дані вмісту тиреоїдних гормонів у сироватці крові кролів усіх експериментальних груп наведені у таблиці.

Перш за все, характеризуючи динаміку вмісту тиреоїдних гормонів у сироватці крові еутиреоїдних кролів у тривалому експерименті (з травня до вересня), необхідно відмітити підйом рівня загальних  $T_3$  та  $T_4$  у сироватці крові на кінцевому етапі досліджень, який співпадав з початком осіннього сезону (див. табл., стовпчик «3 міс.»). Для обох показників ці зміни мали вірогідні значення відносно вихідних даних ( $P < 0,05$ ). Виявлена закономірність свідчить про фізіологічно обумовлені сезонні зміни активності тиреоїдної функції, які необхідно враховувати при проведенні довготривалих експериментів. Отримані результати узгоджуються з даними А. Reinberg та С. Wong [13, 14], які продемонстрували виразні циркануальні коливання з боку тиреоїдної функції — зростання вмісту тиреоїдних гормонів та концентрації ТТГ в крові наприкінці літа — початку осені (з максимумом зимою та мінімумом влітку).

Вивчення впливу препарату кролячої плаценти на тиреоїдну функцію кролів з експериментальним гіпотиреозом показало наступне.

У групах тварин, що отримували мерказоліл, спостерігаються аналогічні еутиреоїдному контролю коливання рівня тиреоїдних гормонів. Однак, на фоні введення та подальшої відміни препарату (група мерказолілового контролю) простежується певне «згладжування» змін проаналізованих показників. Зростання рівня загального  $T_4$  у цій групі тварин наприкінці літа було меншим, ніж в групі інтактного контролю (+22 та +68 % від вихідних даних, відповідно). Різниця абсолютних показників вмісту загального  $T_4$  в крові кролів з експериментальним гіпотиреозом у порівнянні з еутиреоїдними тваринами мала значуще відхилення. Поряд з цим, після відміни мерказолілу, на фоні зменшеного рівня концентрації  $T_4$  в крові, у кролів з експериментальним гіпотиреозом простежується збіль-

шення рівня вільного  $T_3$  відносно контролю, яке сягає вірогідних значень. Це може бути пов'язаним з тим, що і на тлі відміни мерказолілу у кролів до кінця експерименту спостерігається тиреоїдна недостатність (вірогідне падіння рівня  $T_4$  у порівнянні з контролем), що може призводити до компенсаторної активації процесів периферійної конверсії  $T_4$  у  $T_3$  та змін у системі зв'язування останнього з транспортними білками крові. Отримані данні свідчать про те, що пригнічуючий вплив мерказолілу на гормонотворюючу активність щитовидної залози зберігався протягом усього експерименту, тобто і через три місяці досліджень.

У кролів з експериментальним гіпотиреозом, яким було підсаджено тканини плаценти, спостерігаються аналогічні сезонні коливання тиреоїдної функції, але, на відміну від мерказолілового контролю, в цій групі тенденція до змін показників є більш подібною до групи еутиреоїдного контролю. Трансплантація алопрепарату плаценти кролям із гіпотиреозом на ранніх строках дослідження (2 тижні) викликає вірогідне підвищення вмісту загального  $T_4$  і вільного  $T_3$  та тенденцію до падіння концентрації ТТГ в крові тварин відносно мерказолілового контролю (див. табл.).

Через місяць після трансплантації рівень загального  $T_3$  також не мав вірогідних відмін від відповідних значень в обох групах контролю у цей термін дослідження. У порівнянні з двотижневим терміном цей показник певною мірою знижувався до величин, отриманих в групі мерказолілового та еутиреоїдного контролю. Концентрація загального  $T_4$  була вищою у 1,5 рази у порівнянні із групою тварин, що отримували мерказоліл, але залишалася в 1,6 рази меншою від групи еутиреоїдного контролю (див. табл.).

Оцінюючи рівень вільних форм тиреоїдних гормонів після підсадки плаценти, можна зробити висновок, що їх коливання відображають картину нормалізації тиреоїдної функції. Паралельно із загальним  $T_4$ , рівень вільної форми тироксину також зростає на третину на тлі практично такого ж зниже-

**Вплив біопрепарату кріоконсервованої плаценти кролів  
(алотрансплантація) на гіпофізарно-тиреїдну систему кролів  
з експериментальним гіпотиреозом, n = 5**

Показник	Строк дослідження після підсадки плаценти				
	Вихідні дані (27.05.08, 2 міс. МК)	2 тиж.	1 міс.	2 міс.	3 міс.
Еутиреїдний контроль					
Загальний Т <sub>3</sub> , нмоль/л	3,00 ± 0,24	2,65 ± 0,17	2,00 ± 0,24	3,30 ± 0,15	6,15 ± 0,55
Загальний Т <sub>4</sub> , нмоль/л	70,60 ± 5,98	64,20 ± 3,49	77,23 ± 6,54	83,60 ± 7,69	119,00 ± 9,22
Вільний Т <sub>3</sub> , пмоль/л	4,00 ± 0,31	6,65 ± 0,77	4,30 ± 0,37	4,80 ± 0,48	4,15 ± 0,30
Вільний Т <sub>4</sub> , пмоль/л	21,06 ± 1,88	22,95 ± 1,85	18,70 ± 2,00	29,20 ± 2,70	26,55 ± 2,48
ТТГ, мОд/л	0,30 ± 0,01	0,33 ± 0,02	0,30 ± 0,04	0,38 ± 0,03	0,25 ± 0,01
Мерказоліловий контроль					
Загальний Т <sub>3</sub> , нмоль/л	2,15 ± 0,22	2,10 ± 0,18	2,17 ± 0,22	2,12 ± 0,24 <sup>1)</sup>	5,72 ± 0,41
Загальний Т <sub>4</sub> , нмоль/л	47,60 ± 3,07 <sup>1)</sup>	42,86 ± 2,85 <sup>1)</sup>	30,00 ± 2,91 <sup>1)</sup>	39,32 ± 3,15 <sup>1)</sup>	58,31 ± 4,15 <sup>1)</sup>
Вільний Т <sub>3</sub> , пмоль/л	4,50 ± 0,50	4,60 ± 0,32 <sup>1)</sup>	7,27 ± 0,58 <sup>1)</sup>	6,75 ± 0,54 <sup>1)</sup>	8,40 ± 0,75 <sup>1)</sup>
Вільний Т <sub>4</sub> , пмоль/л	22,00 ± 2,61	15,70 ± 1,81	16,00 ± 1,11	14,85 ± 1,60 <sup>1)</sup>	19,10 ± 1,46
ТТГ, мОд/л	0,50 ± 0,03 <sup>1)</sup>	0,43 ± 0,04	0,35 ± 0,03 <sup>1)</sup>	0,47 ± 0,05	0,33 ± 0,02 <sup>1)</sup>
Мерказоліл + алопідсадка плаценти					
Загальний Т <sub>3</sub> , нмоль/л	2,15 ± 0,27	2,80 ± 0,30	2,15 ± 0,08	4,95 ± 0,43 <sup>1) 2)</sup>	7,40 ± 0,69 <sup>2)</sup>
Загальний Т <sub>4</sub> , нмоль/л	48,10 ± 5,0 <sup>1)</sup>	60,00 ± 5,10 <sup>2)</sup>	47,54 ± 3,96 <sup>1) 2)</sup>	84,44 ± 7,01 <sup>2)</sup>	95,62 ± 8,00 <sup>2)</sup>
Вільний Т <sub>3</sub> , пмоль/л	4,72 ± 0,41	6,87 ± 0,58 <sup>2)</sup>	5,15 ± 0,61 <sup>2)</sup>	4,82 ± 0,22 <sup>2)</sup>	7,00 ± 0,58 <sup>1)</sup>
Вільний Т <sub>4</sub> , пмоль/л	17,95 ± 1,80	18,67 ± 2,02	20,92 ± 1,15 <sup>2)</sup>	18,82 ± 1,45 <sup>1)</sup>	27,45 ± 2,06 <sup>2)</sup>
ТТГ, мОд/л	0,57 ± 0,03 <sup>1)</sup>	0,36 ± 0,02	0,27 ± 0,03	0,25 ± 0,02 <sup>1) 2)</sup>	0,21 ± 0,00 <sup>2)</sup>

Примітка. <sup>1)</sup> — значущість змін показників відносно еутиреїдного контролю (P ≤ 0,05);

<sup>2)</sup> — значущість змін показників відносно мерказолілового контролю (P ≤ 0,05).

ння показника вільного Т<sub>3</sub>. Відмічені зміни з боку гормонів щитовидної залози супроводжуються подальшим падінням ТТГ у сироватці крові. Зниження концентрації тиреотропіну, який є маркером функціональної активності щитовидної залози, свідчить про те, що у системі гіпофіз — щитовидна залоза через місяць після підсадки препарату плаценти кроля спостерігаються досить виразні зміни у напрямку активізації гормонопродукуючої активності тиреїдної паренхі-

ми. Можна припустити, що після закінчення процесу приживлення та адаптації алотрансплантату в організмі кролів відбувається нормалізація та відновлення функції щитовидної залози.

Через два місяця після підсадки плаценти простежується стабільне тривале зростання Т<sub>4</sub>, яке набуває максимальних відсоткових значень. Його абсолютні величини практично не відрізняються від показників, отриманих в групі еутиреїдного контролю.

Через три місяця після операції темпи приросту рівня загального  $T_4$  починають поступово знижуватись, однак його концентрація в крові є вірогідно вищою у порівнянні з мерказоліловим контролем, наближаючись до значень, отриманих у еутиреоїдних тварин. Концентрація загального  $T_3$  також значуще вища, ніж у кролів з некорегованим гіпотиреозом. Вміст вільної форми  $T_4$ , як і загального  $T_4$ , не відрізняється від показників групи інтактного контролю, що може вказувати на відновлення гормонотворюючої функції щитовидної залози.

На другому і третьому місяці експерименту спостерігається подальше зниження показника ТТГ до значень, навіть нижчих, ніж в групі еутиреоїдного контролю, що, у свою чергу, свідчить про активацію тиреоїдної функції. Певне гальмування збільшення вмісту в сироватці крові вільного  $T_3$  та зниження рівня ТТГ відносно даних групи мерказолілового контролю підтверджує висновок про позитивні зміни з боку гіпофізарно-тиреоїдної системи, що спостерігались протягом експерименту після підсадки тканини плаценти.

## ВИСНОВКИ

1. Після трансплантації тканини плаценти кролям на фоні експериментального гіпотиреозу щитовидна залоза має здатність до достатньо тривалого відновлення своєї функціональної активності.
2. Ало-тканина плаценти має виразний стимулюючий ефект на тиреоїдну функцію кролів з пригніченою щитовидною залозою, який реалізується

шляхом активації процесу утворення тироксину в залозі, підтвердженням чому є значущий підйом його концентрації в крові.

3. Максимальний ефект біопрепарату спостерігається через два місяці і зберігається щонайменше протягом трьох місяців перебування алотрансплантата в організмі реципієнта.

## ЛІТЕРАТУРА

1. *Pearse E. N.* Subclinical Hyperthyroidism [Text] / E. N. Pearse // N. Engl. J. Med. — 2001. — Vol. 345. — P. 512–516.
2. *Александрова Г. Ф.* Клиническая эндокринология [Текст]: руководство / Г. Ф. Александрова. — СПб., 2002. — С. 165–176.
3. *Фадеев В. В.* Современные концепции диагностики и лечения гипотиреоза у взрослых [Текст] / В. В. Фадеев // Пробл. эндокринологии. — 2004. — Т. 50, № 20. — С. 37–54.
4. О возможных механизмах метода терапевтического использования фетальных клеток и тканей [Текст] / Н. В. Васильева, Т. И. Коляда, Ю. А. Волянский [и др.] // Трансплантация фетальных тканей и клеток человека: сб. науч. тр. — М., 1996. — С. 28–31.
5. *Кулаков В. И.* Трансплантация фетальных тканей человека: анализ состояния проблемы и перспективы развития [Текст] / В. И. Кулаков, Г. Т. Сухих, Е. М. Молнар // Трансплантация фетальных тканей и клеток человека: сб. науч. тр. — М., 1996. — С. 5–10.
6. *Cynthia B. C.* The future of fetal tissue bank [Text] / B. C. Cynthia, A. R. Jonsen // Sciens. — 1993. — Vol. 262. — P. 1663–1665.
7. *Сукач А. Н.* Изучение биохимического состава криоконсенсированных препаратов эмбриональных тканей человека [Текст] / А. Н. Сукач, А. Ю. Семенченко, А. Ю. Петренко // Пробл. криобиологии. — 2001. — № 3. — С. 34.
8. Плацента — источник биологически активных веществ [Текст] / Р. П. Морозова, Е. П. Козулина, И. А. Николенко [и др.] // Укр. біохім. журн. — 1999. — Т. 71, № 4. — С. 21–29.
9. The human placenta: a guide for clinicians and scientists [Text] // ed. by C. W. G. Redman, J. L. Sargent, P. Starkley — Oxford, Boston: Blackwell Scientific Publications, 1993. — 598 p.
10. *Грищенко В. И.* Новые криобиологические технологии получения клеточных и тканевых фетоплацентарных трансплантатов и их использование в медицине [Текст] / В. И. Грищенко, Т. Н. Юрченко, О. С. Прокопчук // Трансплантология. — 2004. — № 3. — С. 123–129.
11. Доклінічне вивчення тиреостатичних та тиреоїдстимулюючих засобів [Текст] / О. С. Ром-Бугославська, Т. С. Божко, І. В. Комарова [та ін.] // Доклінічні дослідження лікарських засобів: метод. рекомендації. — К., 2001. — С. 409–420.

12. Клеточная и тканевая трансплантация. Биопрепараты [Текст] / под ред. Т.Н. Юрченко; ИПКиК НАНУ, МНЦ криобиологии и криомедицины НАН, АМН и МОЗ Украины. —Х., 2003. — 67 с.
13. Reinberg A. Advances in clinical chronopharmacology [Text] / A. Reinberg // Trends Pharmacol. — 1979. — Vol. 1. — P. 81–83.
14. Wong C. Seasonal variation of basal serum TSH, prolactin and FSH level in adult male laboratory rats [Text] / C. Wong, K. Dohler // Acta endocrinol. — 1980. — Vol. 94, № 234. — P. 62–63.

### ВИВЧЕННЯ ВПЛИВУ АЛОПРЕПАРАТУ ПЛАЦЕНТИ НА ТИРЕОЇДНУ ФУНКЦІЮ КРОЛІВ

Малова Н. Г., Комарова І. В., Юрченко Т. М.<sup>1</sup>, Сиротенко Л. А., Бречка Н. М.,  
Чуйкова В. І.<sup>1</sup>, Таранова К. С.

ДУ «Інститут проблем ендокринної патології ім. В. Я. Данилевського АМН України», м. Харків;

<sup>1</sup>Інститут проблем криобиології і криомедицини НАН України, м. Харків

Вивчено дію криоконсервованих біопрепаратів плаценти на відновлення функції щитовидної залози на фоні експериментального гіпотиреозу. Встановлено, що після трансплантації тканини плаценти кроля щитовидна залоза тварин з експериментальним гіпотиреозом має здатність до достатньо тривалого відновлення своєї функціональної активності. Показано, що ало-тканина плаценти має виразний стимулюючий ефект на тиреоїдну функцію кролів з пригніченою щитовидною залозою. Максимальний ефект біопрепарату припадає на двохмісячний строк і зберігається на третьому місяці перебування алотрансплантата в організмі реципієнта.

Ключові слова: щитовидна залоза, мерказоліловий гіпотиреоз, плацента кролів, трансплантація, тиреоїдні гормони.

### ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ АЛЛОПРЕПАРАТА ПЛАЦЕНТЫ НА ТИРЕОИДНУЮ ФУНКЦИЮ КРОЛЕЙ

Малова Н. Г., Комарова И. В., Юрченко Т. Н.<sup>1</sup>, Сиротенко Л. А., Бречка Н. М.,  
Чуйкова В. И.<sup>1</sup>, Таранова Е. С.

ГУ «Институт проблем эндокринной патологии им. В. Я. Данилевского АМН Украины», г. Харьков;

<sup>1</sup>Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков

Изучено влияние криоконсервированных биопрепаратов плаценты на восстановление функции щитовидной железы на фоне экспериментального гипотиреоза. Установлено, что после трансплантации ткани плаценты кроля щитовидная железа животных с экспериментальным гипотиреозом имеет способность к достаточно длительному возобновлению своей функциональной активности. Показано, что алло-ткань плаценты имеет выразительный стимулирующий эффект на тиреоидную функцию кролей с угнетенной щитовидной железой. Максимальный эффект биопрепарата приходится на двухмесячный срок и сохраняется на третьем месяце пребывания аллотрансплантата в организме реципиента.

Ключевые слова: щитовидная железа, мерказолиловый гипотиреоз, плацента кролей, трансплантация, тиреоидные гормоны.