

УДК 616.441

© Коллектив авторов

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ МИЛДРОНАТА И ЕГО ПРОИЗВОДНЫХ НА УРОВЕНЬ ТИРЕОИДНЫХ ГОРМОНОВ И НЕКОТОРЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ ЛИПИДНОГО И УГЛЕВОДНОГО ОБМЕНА У ГИПЕР- И ГИПОТИРЕОИДНЫХ КРЫС

*Е.М. Шарипова¹, Э.В. Сална^{1,2}, М.Я. Дзинтаре¹, Л.Я. Ляуберте¹, Д.В. Мейрена¹,
Н.И. Сьякте^{1,2*}, В.С. Гордюшина², И.Я. Калвиньш¹*

¹Латвийский Институт органического синтеза, ул. Айзкрауклес 21,
Рига, LV-1006, Латвия.; тел: +371 7038120; факс: +371 7550338;
эл. почта: Nikolajs.Sjakste@lu.lv; sjakste@osi.lv

²Медицинский факультет Латвийского университета, Рига, Латвия

Исследовали влияние милдроната - [3(2,2,2-триметилгидразиний) пропионата дигидрата], γ -бутиробетаина, а также их в комбинации ("Неомилдронат") на уровень тиреоидных гормонов и некоторых метаболитов основного обмена (свободные жирные кислоты, триглицериды, глюкоза) в сыворотке крови лабораторных крыс с различными дисфункциями щитовидной железы: с идиопатической гиперфункцией, а также с гипофункцией, вызванной введением 6-тио-2-пропилаурацила или больших доз L-карнитина. Показано, что введение милдроната в дозе 150 мг/кг (в/бр) в течение 20 дней крысам, имеющим повышенный уровень тиреоидных гормонов в сыворотке крови и увеличенный основной обмен, нормализовало уровень тироксина и показатели липидного обмена в сыворотке крови. При экспериментальном гипотиреозе, вызванном введением крысам 2-пропил-6-тиоурацила или L-карнитина, исследованные лекарственные препараты не влияли на естественное восстановление уровня гормона. Обсуждается возможная биохимическая роль исследованных препаратов в регуляции функций щитовидной железы.

Ключевые слова: милдронат и его производные, дисфункции щитовидной железы у крыс, экспериментальные модели, тиреоидные гормоны, метаболиты основного обмена в сыворотке крови.

ВВЕДЕНИЕ. В литературе имеются данные [1], что милдронат (3-(2,2,2-триметилгидразиний) пропионата дигидрат (МЕТ-88, мелдоний, кватерин), обладающий широким терапевтическим спектром, предотвращает стрессовые повреждения и восстанавливает функции щитовидной железы. На модели эмоционально-болевого стресса с помощью радиоиммунных подходов показано, что при использовании милдроната наблюдается снижение повышенного уровня тиреоидных гормонов, вызванного стрессом. Нормализующее влияние этого препарата на гормональный статус подтверждается также данными морфометрической оценки функционального состояния фолликулярного эпителия щитовидной железы.

По мнению авторов, исследование обосновывает возможность применения милдроната в практической медицине.

* - адресат для переписки

ВЛИЯНИЕ МИЛДРОНАТА НА УРОВЕНЬ ТИРЕОИДНЫХ ГОРМОНОВ

Одной из целей настоящей работы было изучение в опытах на лабораторных крысах (имеющих повышенный уровень в сыворотке крови тиреоидных гормонов: тироксина (T_4) и трийодтиронина (T_3)) влияния милдроната, в двух курсовых режимах (150 мг/кг, 10 и 20 дней), при внутривенном (в/в) введении, на уровень T_4 , T_3 , а также на некоторые показатели липидного (свободные жирные кислоты, СЖК, и триглицериды) и углеводного обмена (глюкоза). В предыдущих наших исследованиях показано, что милдронат ингибирует β -окисление жирных кислот и переключает энергетический метаболизм на окисление глюкозы [2, 3]. Мы полагаем, что милдронат может способствовать нормализации метаболизма при гипертиреозе.

Второй целью работы было изучение влияния милдроната, а также его биологического предшественника – γ -бутиробетаина (ГББ), в отдельности и в комбинации с милдронатом (препарат „Неомилдронат”, автор – И.Я. Калвиньш, Латвийский Институт органического синтеза, Рига) на уровень тиреоидных гормонов (T_4 , T_3), СЖК, триглицеридов и глюкозы в сыворотке крови крыс с экспериментальным гипотиреозом, который вызвали при помощи антигипотиреоидного средства 2-пропил-6-тиоурацила (ПТУ). В качестве гипотиреоидного средства изучен также L-карнитин, так как в литературе появились данные о его антигипотиреоидных свойствах [4]. На животных, получавших высокие дозы L-карнитина (в/в), изучали милдронат как возможный антагонист L-карнитина в отношении его действия на содержание T_4 и T_3 в сыворотке крови, а также изучали действие γ -бутиробетаина и комбинацию милдроната с γ -бутиробетаином (препарат “Неомилдронат”).

МЕТОДИКА. Опыты проведены на взрослых белых крысах-самцах (масса 220–250 г) линии Вистар из лаборатории экспериментальных животных Рижского университета им. П. Страдыня (Латвия). Животные получали корм фирмы Лактамин (Швеция), в котором содержание йода составляет 2 мг/кг, что соответствует норме. Животных содержали в стандартных условиях. В помещении был искусственный цикл день/ночь 12 ч/12 ч, температуру поддерживали около 20°C при искусственной вентиляции. Каждая экспериментальная группа состояла из пяти животных. На проведение работы было получено разрешение совета по этике при Министерстве Земледелия Латвийской Республики.

Экспериментальный гипотиреоз вызывали, заменяя крысам в течение 3 недель обычную питьевую воду на 0,02% (масса/объем) слегка щелочной (pH 7,2–7,4) водный раствор 6-пропил-2-тиоурацила (ПТУ), [5]. О степени развития гипотиреоза судили по изменению массы животных и уменьшению содержания тиреоидных гормонов – T_4 и T_3 в сыворотке крови крыс. Следили также за изменениями показателей липидного (СЖК, триглицериды) и углеводного (глюкоза) обмена в сыворотке крови.

Экспериментальный гипотиреоз вызывали также введением в течение от 4 до 11 недель больших доз (до 1,0 г/кг (в/в) в день) раствора L-карнитина. Схема опытов дана при изложении результатов.

Милдронат получен из ПТО Гриндекс (Латвия), γ -бутиробетаин был синтезирован в Латвийском институте органического синтеза, L-карнитин получен из фирмы Acros (Бельгия), 6-пропил-2-тиоурацил – продукт фирмы Sigma-Aldrich (Германия).

Для забора крови крыс декапитировали с помощью гильотины под лёгким эфирным наркозом. Далее для анализов готовили сыворотку крови. Определение T_4 и T_3 в сыворотке крови проводили радиоиммунными методами в клинической лаборатории (лаборатория Э. Гулбиса, Латвия). СЖК, триглицериды и глюкозу определяли энзиматическими методами, используя набор реактивов фирмы Roche (Германия) для определения СЖК и наборы реактивов для определения триглицеридов и глюкозы фирмы BioSystems (Испания).

Достоверность различий оценивали по критерию Стьюдента и Вилкоксона-Уайта. Различия считали достоверными при $p < 0,05$.

Морфологические исследования. Щитовидную железу фиксировали в 10% формалине pH 7,4, заливали парафином и готовили срезы толщиной 4 мкм. Срезы окрашивали гематоксилином и эозином. Просмотр гистологических препаратов проводили с помощью микроскопа LEICA BM7 (Германия). Фотографирование проведено с использованием микроскопа и фотокамеры Motic Image Advanced 3.2. (Motic) (100× и 400×).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ. Экспериментальные данные по влиянию милдроната на уровень T_4 , T_3 , СЖК, триглицеридов и глюкозы в сыворотке крови интактных крыс приведены в таблице 1.

Таблица 1. Уровень тиреоидных гормонов T_4 и T_3 , СЖК, триглицеридов и глюкозы в сыворотке крови интактных крыс и у животных, получавших 10- или 20-дневный курс введения милдроната (150 мг/кг) (в/бр).

№	Экспериментальные группы	Показатели				
		T_4 нМ	T_3 нМ	СЖК ммМ	Триглицериды ммМ	Глюкоза ммМ
1.	Интактные животные	$80,42 \pm 2,63$	$1,92 \pm 0,09$	$0,82 \pm 0,12$	$1,58 \pm 0,27$	$5,57 \pm 0,34$
2.	Милдронат, 10-дневный курс	$70,25 \pm 2,29^*$	$1,80 \pm 0,06$	$1,12 \pm 0,30^*$	$1,50 \pm 0,20$	$5,75 \pm 0,61$
3.	Милдронат, 20-дневный курс	$67,00 \pm 7,58^*$	$1,80 \pm 0,15$	$0,62 \pm 0,18^*$	$1,29 \pm 0,19$	$5,07 \pm 0,49$

Примечание: * - Различия между группами 1-2, 1-3 достоверны, $p < 0,05$.

Установлено, что в популяции крыс линии Вистар из питомника, поставляющего нам животных для экспериментов, наблюдается заметная дисфункция щитовидной железы. Из литературных источников известно, что в норме уровень T_4 у крыс в сыворотке крови составляет 54 ± 4 нМ, а $T_3 - 0,8 \pm 0,1$ нМ [6, 7]. Из этих же литературных источников следует, что в норме соотношение T_4/T_3 составляет 70 : 1, а соотношение $T_3/T_4 - 16 : 1000$.

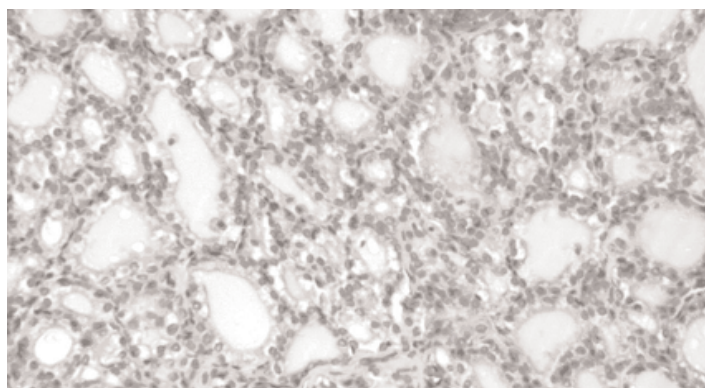
У использованных в наших опытах крыс концентрация тиреоидных гормонов T_4 и T_3 в сыворотке крови была $80,4 \pm 2,6$ нМ и $1,9 \pm 0,1$ нМ соответственно. Наряду с содержанием T_4 увеличивается содержание T_3 . Соотношение T_4/T_3 составляло 42:1, а соотношение $T_3/T_4 - 23 : 1000$. Следовательно, наблюдается заметное снижение коэффициента T_4/T_3 и увеличение коэффициента T_3/T_4 .

Известно, что по уровню T_4 в сыворотке крови можно судить о функциональной активности щитовидной железы, тогда как критерием реализации эффекта тиреоидных гормонов является уровень T_3 [7]. Возможно, что наблюдаемое у крыс данной популяции повышенное содержание в крови метаболически активного тиреоидного гормона T_3 по сравнению с нормой, указывает на повышенный основной обмен, что характерно для гипертиреоза.

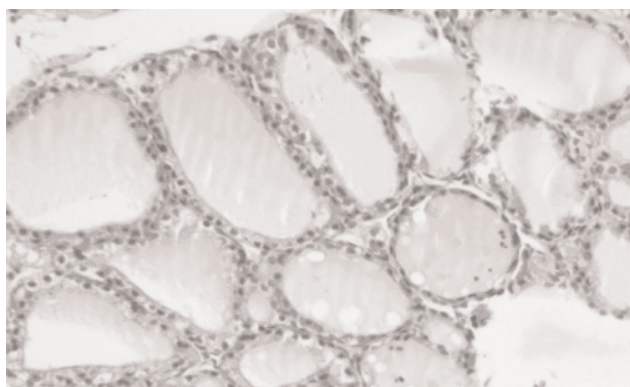
Биохимические анализы сыворотки крови крыс показали, что подопытные интактные животные имеют повышенные показатели липидного и углеводного обмена.

Так, уровни СЖК и триглицеридов в сыворотке крови (табл. 1), характеризующие липидный обмен, превышают эти показатели у крыс в норме, известные по литературным данным (СЖК 0,2–0,6 мМ, триглицериды $0,86 \pm 0,25$ мМ) [8].

Повышен также уровень глюкозы в сыворотке крови (норма 4–5,4 мМ). Гипертиреоз был подтверждён гистологически (рис. 1А). В исследованных препаратах определялось преимущественно микрофолликулярное строение щитовидной железы, фолликулы были в основном некруглой формы, коллоид был окрашен неравномерно, наблюдали цилиндрический фолликулярный эпителий, высокий и с большим количеством вакуолей. Найденные изменения соответствовали гипертрофированному строению щитовидной железы.



А



Б



В

Рисунок 1.

- А.** Фотография. Щитовидная железа у контрольной группы крыс линии Wistar, $\times 400$. Определяется преимущественно микрофолликулярное строение щитовидной железы. Фолликулы в основном некруглой формы. Коллоид окрашен неравномерно. Фолликулярный эпителий цилиндрический, высокий с большим количеством вакуолей. Найденные изменения соответствуют гипертрофированному строению щитовидной железы.
- Б.** Фотография. Щитовидная железа крыс линии Wistar после лечения гипотиреоза милдронатом, $\times 400$. Фолликулы округлой и овальной формы. Размеры фолликулов не изменены. В коллоиде эпителий одноярусный, кубической формы, наблюдаются вакуоли. Морфологические изменения соответствуют эутиреоидному состоянию щитовидной железы.
- В.** Фотография. Щитовидная железа крыс линии Wistar после 21-дневного введения водного раствора 6-пропил-2-тиоурацила, $\times 100$. Размеры фолликулов увеличены, в фолликулах много плотного коллоида, фолликулярный эпителий уплощен. Морфологические изменения типичны для слабой функциональной активности щитовидной железы при гипотиреозе.

После 10-или 20-дневного курса в/бр введения милдроната (дневная доза 150 мг/кг) биохимические показатели в зависимости от дозы милдроната показывали определённые сдвиги.

При 10-дневном курсе введения, милдронат повышал уровень СЖК в сыворотке крови крыс. Это подтверждает общеизвестный механизм действия милдроната, а именно: являясь ингибитором β -окисления жирных кислот, он способствует повышению их концентрации в крови. Влияние препарата на другие изученные нами параметры мало выражено.

После 20-дневного курса введения, милдронат нормализует как уровень тиреоидных гормонов (более выражено - T_4), так и показатели липидного и углеводного обмена (табл. 1, рис. 2). Гистологическая картина подтверждает биохимические и гормональные показатели (рис. 1Б). Фолликулы обретали округлую и овальную формы, их размеры не были изменены. В коллоиде наблюдали однорядный эпителий кубической формы, наблюдались вакуоли. Морфологические изменения соответствовали эутиреоидному состоянию щитовидной железы.

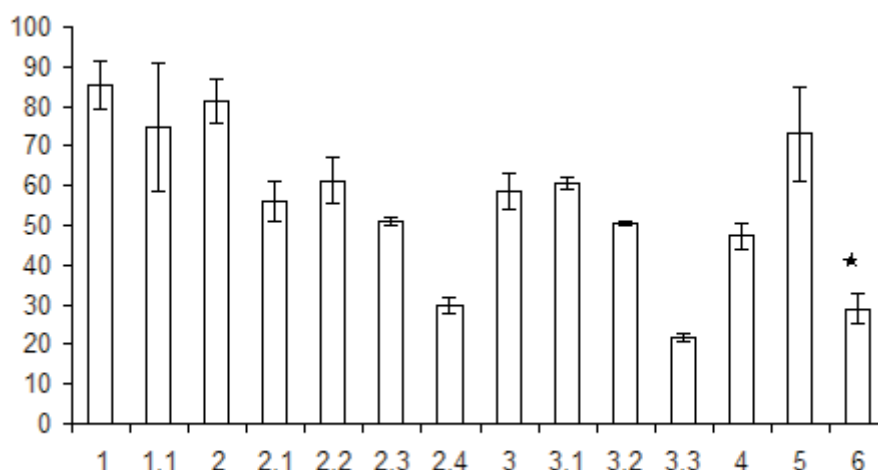


Рисунок 2.

Уровень T_4 в сыворотке крови крыс после проведения курса милдроната (1 г/кг в/бр, 10 и 20 дней) на фоне длительного введения L-карнитина (в/бр) (4, 6, 8 и 11 недель) в сравнении с интактными животными и животными, получавшими физиологический раствор (в/бр).

- 1.- интактный контроль в начале эксперимента; 1.1.- интактный контроль в конце эксперимента (после 9 недель); 2.- 0,9% NaCl, 2 мл/кг, 4 недели; 2.1.- 0,9% NaCl, 2 мл/кг, 6 недель;
- 2.2.- 0,9% NaCl, 2 мл/кг, 6 недель и перерыв 3 недели; 2.3.- 0,9% NaCl, 2 мл/кг, 8 недель;
- 2.4.- 0,9% NaCl, 2 мл/кг, 10 недель; 3.- L- карнитин, 1 г/кг, 4 недели, (суммарная доза 28 г/кг);
- 3.1.- L- карнитин, 1 г/кг, 6 недель (суммарная доза 42 г/кг); 3.2.- L- карнитин, 1 г/кг, 8 недель (суммарная доза 56 г/кг); 3.3.- L- карнитин, 1 г/кг, 11 недель (суммарная доза 77 г/кг);
- 4.- L- карнитин, 1 г/кг, 6 недель (суммарная доза 42 г/кг) и перерыв 3 недели; 5.- L- карнитин, 1 г/кг, 6 недель (суммарная доза 42 г/кг) + милдронат 150 г/кг, 10 дней (суммарная доза 1,5 г/кг);
- 6.- L- карнитин, 1 г/кг, 6 недель (суммарная доза 42 г/кг) + милдронат 150 г/кг, 20 дней (суммарная доза 3,0 г/кг).

Следовательно, курсовое введение милдроната в дозе 150 мг/кг в/бр в течение 20 дней крысам линии Вистар, имеющим повышенный уровень тиреоидных гормонов в сыворотке крови и увеличенный основной обмен, приводило к нормализации уровня тироксина, концентрации СЖК и глюкозы в сыворотке крови.

ВЛИЯНИЕ МИЛДРОНАТА НА УРОВЕНЬ ТИРЕОИДНЫХ ГОРМОНОВ

Во второй части работы мы изучали действие милдроната и γ -бутиробетаина (ГББ) отдельно и совместно (препарат „Неомилдронат“) на содержание T_4 , T_3 , СЖК, триглицеридов и глюкозы в сыворотке крови крыс-самцов линии Вистар с экспериментально вызванным гипотиреозом. В одном случае экспериментальный гипотиреоз вызывали при помощи 6-пропил-2-тиоурацила (ПТУ), во втором случае – при помощи высоких доз L-карнитина (в/бр), который обладает антигипотиреозными свойствами. Совсем недавно L-карнитин прошёл клинические испытания как антигипотиреозное средство (периферический антагонист T_3) [4].

Характеристика состояния крыс после 21-дневного действия ПТУ дана в таблице 2, рисунках 3 и 1В.

Таблица 2. Влияние 6-пропил-2-тиоурацила (ПТУ) в течение 21 дня (0,02% раствор для питья) на содержание тиреоидных гормонов и некоторые биохимические показатели сыворотки крови крыс.

Показатели	Контроль	ПТУ, 21 день
T_4	$80,42 \pm 2,63$ нМ	$12,90 \pm 0,00^*$ нМ
T_3	$1,92 \pm 0,09$ нМ	$0,78 \pm 0,06^*$ нМ
СЖК	$0,82 \pm 0,12$ мМ	$0,46 \pm 0,06^*$ мМ
Триглицериды	$1,58 \pm 0,27$ мМ	$1,35 \pm 0,04$ мМ
Глюкоза	$5,57 \pm 0,34$ мМ	$6,68 \pm 0,25^*$ мМ
Масса тела	$387,00 \pm 6,33$ г	$315,00 \pm 6,45^*$ г

Примечание: * - $p < 0,05$ против контрольной группы.

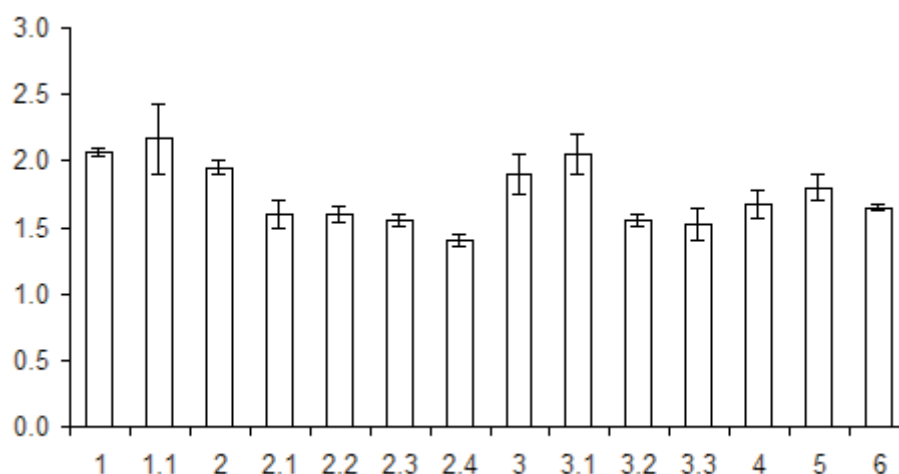


Рисунок 3.

Уровень T_3 в сыворотке крови крыс после введения курса милдроната (1 г/кг в/бр, 10 и 20 дней) на фоне длительного введения L-карнитина (в/бр) (4, 6, 8 и 11 недель) в сравнении с интактными животными и животными, получавшими физиологический раствор (в/бр).

- 1.- интактный контроль в начале эксперимента; 1.1.- интактный контроль в конце эксперимента (после 9 недель); 2.- 0,9% NaCl, 2 мл/кг, 4 недели; 2.1.- 0,9% NaCl, 2 мл/кг, 6 недель;
- 2.2.- 0,9% NaCl, 2 мл/кг, 6 недель и перерыв 3 недели; 2.3.- 0,9% NaCl, 2 мл/кг, 8 недель;
- 2.4.- 0,9% NaCl, 2 мл/кг, 10 недель; 3.- L-карнитин, 1 г/кг, 4 недели, (суммарная доза 28 г/кг);
- 3.1.- L-карнитин, 1 г/кг, 6 недель (суммарная доза 42 г/кг); 3.2.- L-карнитин, 1 г/кг, 8 недель (суммарная доза 56 г/кг); 3.3.- L-карнитин, 1 г/кг, 11 недель (суммарная доза 77 г/кг);
- 4.- L-карнитин, 1 г/кг, 6 недель (суммарная доза 42 г/кг) и перерыв 3 недели; 5.- L-карнитин, 1 г/кг, 6 недель (суммарная доза 42 г/кг) + милдронат 150 г/кг, 10 дней (суммарная доза 1,5 г/кг);
- 6.- L-карнитин, 1 г/кг, и/п, 6 недель (суммарная доза 42 г/кг) + милдронат 150 г/кг, 20 дней (суммарная доза 3,0 г/кг).

Как видно из таблицы 2, у крыс наступало гипотиреозидное состояние. Уровни тиреоидных гормонов T_3 и T_4 в сыворотке крови уменьшены. Размеры фолликулов были увеличены, в фолликулах было много плотного коллоида, фолликулярный эпителий был уплощён (рис. 1В). Наблюдаемые морфологические изменения типичны для слабой функциональной активности щитовидной железы при гипотиреозе.

Концентрации СЖК и триглицеридов в сыворотке крови были понижены. Концентрация глюкозы в сыворотке крови имела тенденцию к повышению, возможно, наблюдался компенсаторный процесс в ответ на пониженный липидный метаболизм.

Масса подопытных животных, по сравнению с массой контрольных животных, уменьшалась.

Согласно литературным данным, при гипотиреозе биосинтез длинноцепочечных жирных кислот в тканях и процесс липолиза подавлены [9]. Наши данные, в определённой степени, согласуются с этими фактами. Концентрация глюкозы в сыворотке крови при гипотиреозе, по данным других авторов [10], уменьшена, чему наши данные противоречат. По данным литературы, для гипотиреоза характерно увеличение массы тела [10]. Возможно, что в наших опытах проявляется токсичность ПТУ, что сказывается на потере массы тела животных.

На фоне гормональных и биохимических изменений вызванных экспериментальным гипотиреозом у крыс, было начато введение следующих препаратов: милдроната и γ -бутиробетаина (ГББ) в отдельности и в комплексе (препарат “Неомилдронат”). Были поставлены две серии опытов. В одном опыте изучалось действие милдроната, в другом – действие ГББ и “Неомилдроната”.

Результаты по влиянию милдроната представлены в таблице 3, а результаты по влиянию ГББ в отдельности и совместно с милдронатом (“Неомилдронат”) приведены в таблице 4. В каждом случае параллельно животным вводили стерильный раствор 0,9% NaCl 2 мл/кг для оценки влияния стресс-фактора, обусловленного введением препаратов (также контроль на самовосстановление функций щитовидной железы в течение 10–20 дней после прекращения введения ПТУ).

Таблица 3. Влияние милдроната (150 мг/кг, (в/бр)) при введении в течение 10 и 20 дней на уровень тиреоидных гормонов T_4 и T_3 и на некоторые биохимические показатели липидного и углеводного обмена в сыворотке крови крыс с экспериментально вызванным с помощью 6-пропил-2-тиоурацила (ПТУ) гипотиреозом и сравнение действия милдроната с плацебо эффектом - введением 0,9 % NaCl раствора (2 мл/кг).

	Экспериментальная группа	T_4 (нМ)	T_3 (нМ)	СЖК (мм)	Триглицериды (мм)	Глюкоза (мм)
1.	Интakтные крысы	$80,42 \pm 2,63$	$1,92 \pm 0,09$	$0,82 \pm 0,12$	$1,58 \pm 0,27$	$5,57 \pm 0,34$
2.	ПТУ, 21 день	$12,90 \pm 0,01^{**}$	$0,78 \pm 0,06^{**}$	$0,46 \pm 0,06^{**}$	$1,35 \pm 0,04$	$6,68 \pm 0,25^{**}$
3.	ПТУ, 21 день, 0,9 % NaCl, 10 дней	$99,25 \pm 8,39^*$	$2,10 \pm 0,23^*$	$0,62 \pm 0,18$	$1,60 \pm 0,25$	$6,10 \pm 0,53$
4.	ПТУ, 21 день, милдронат, 10 дней	$88,80 \pm 6,91^*$	$1,92 \pm 0,16^*$	$0,82 \pm 0,01^*$	$2,06 \pm 0,04^*$	$7,01 \pm 0,04$
5.	ПТУ, 21 день, 0,9 % NaCl, 20 дней	$94,75 \pm 9,94^*$	$2,05 \pm 0,16^*$	$0,51 \pm 0,12$	$1,20 \pm 0,21$	$5,56 \pm 0,25^*$
6.	ПТУ, 21 день, милдронат, 20 дней	$78,80 \pm 3,34^*$	$2,12 \pm 0,06^*$	$1,43 \pm 0,05^*$	$1,52 \pm 0,42$	$6,81 \pm 0,44$

Примечание: Здесь и в таблице 4 * - $p < 0,05$ против ПТУ, 21 день; ** - $p < 0,05$ против контрольной группы.

ВЛИЯНИЕ МИЛДРОНАТА НА УРОВЕНЬ ТИРЕОИДНЫХ ГОРМОНОВ

Как следует из данных таблиц 3 и 4, экспериментальный гипотиреоз, вызванный с помощью 0,02% раствора ПТУ (который заменял питьевую воду крыс в течение 3 недель), был очень выражен, однако происходило довольно быстрое восстановление функции щитовидной железы. Так, последующие введения крысам физиологического раствора (0,9% NaCl) в течении 10–20 дней приводило к тому, что уровни T_4 и T_3 , СЖК, триглицеридов и глюкозы в сыворотке крови приближались к этим показателям у интактных крыс.

Таблица 4. Влияние γ -бутиробетаина (ГББ) (30 мг/кг) и неомилдроната (γ -бутиробетаин 30 мг/кг) совместно с милдронатом (120 мг/кг) при внутрибрюшинном введении в течение 10 и 20 дней на уровень тиреоидных гормонов T_4 и T_3 и на некоторые биохимические показатели липидного и углеводного обмена в сыворотке крови крыс с экспериментально вызванным с помощью 6-пропил-2-тиоурацила (ПТУ) гипотиреозом и сравнение действия ГББ и неомилдроната с плацебо эффектом - введением 0,9 % раствора NaCl (2 мг/кг).

	Экспериментальные группы	T_4 (нМ)	T_3 (нМ)	СЖК (мМ)	Триглицериды (мМ)	Глюкоза (мМ)
1.	Интактные крысы	$73,00 \pm 8,00$	$2,05 \pm 0,15$	$0,54 \pm 0,11$	$3,04 \pm 1,29$	$3,95 \pm 0,59$
2.	ПТУ, 21 день	$12,9 \pm 2,10^{**}$	$1,30 \pm 0,10^{**}$	$0,49 \pm 0,15$	$2,47 \pm 0,83$	$6,68 \pm 0,49$
3.	ПТУ, 21 день, 0,9 % NaCl, 10 дней	$99,25 \pm 8,39^*$	$2,10 \pm 0,23^*$	$0,35 \pm 0,08$	$6,38 \pm 1,42$	$6,10 \pm 0,53$
4.	ПТУ, 21 день, 0,9 % NaCl, 20 дней	$93,00 \pm 9,84^*$	$2,05 \pm 0,16^*$	$0,45 \pm 0,10$	$4,60 \pm 1,66$	$5,56 \pm 0,25$
5.	ПТУ, 21 день, ГББ, 10 дней	$83,50 \pm 2,40^*$	$2,10 \pm 0,05^*$	$0,87 \pm 0,17$	$1,13 \pm 0,06$	$2,41 \pm 0,49$
6.	ПТУ, 21 день, ГББ, 20 дней	$50,67 \pm 2,03^*$	$1,40 \pm 0,06$	$0,70 \pm 0,25$	$1,30 \pm 0,25$	$4,33 \pm 0,61$
7.	ПТУ, 21 день, неомилдронат, 10 дней	$93,50 \pm 9,95^*$	$2,27 \pm 0,38^*$	$0,93 \pm 0,33$	$1,40 \pm 0,34$	$8,14 \pm 0,10$
8.	ПТУ, 21 день, неомилдронат, 20 дней	$92,33 \pm 6,36^*$	$1,83 \pm 0,07$	$0,77 \pm 0,22$	$0,93 \pm 0,25$	$9,80 \pm 0,05$

Как видно из таблицы 3, милдронат (150 мг/кг) в двух схемах введения – 10 дней и 20 дней не влиял на восстановление уровня тиреоидных гормонов T_4 и T_3 в сыворотке крови крыс при обеих схемах введения. Однако длительное введение (20 дней) сказывалось на концентрации СЖК в сыворотке крови, этот показатель значительно повышался (1,43 мМ) по сравнению с концентрацией СЖК у интактных животных (0,82 мМ). Здесь, очевидно, сказывается эффект милдроната как ингибитора β -окисления.

Введение милдроната в течении 10 дней нормализовало уровень СЖК в сыворотке крови.

Уровень триглицеридов был ближе к норме при схеме введения 20 дней, а уровень глюкозы – при обеих схемах введения сохранялся выше, чем в норме.

ГББ, который в организме накапливается в результате ингибирования милдронатом фермента γ -бутиробетаингидроксилазы (ББГ), катализирующей биосинтез L-карнитина из ГББ, введенный в/бр крысам в дозе 30 мг/кг в течение 10 дней благоприятно влиял на функционирование щитовидной железы у крыс с экспериментально вызванным гипотиреозом (табл. 4). В течении 10 дней уровень тиреоидных гормонов в крови восстанавливался. Однако, введение ГББ в течение 20 дней, неблагоприятно сказывалось на уровне тиреоидных гормонов T_4 и T_3 в сыворотке крови – их содержание оставалось ниже нормы. Концентрация СЖК в сыворотке крови при схеме введения ГББ 10 и 20 дней заметно повышалась. Концентрация триглицеридов при обеих схемах введения ГББ была ниже нормы. Заметно менялась концентрация глюкозы в сыворотке крови: через 10 дней после введения препарата концентрация глюкозы в сыворотке крови была ниже нормы, а через 20 дней введения – близка к норме. Каких-либо закономерностей в колебании концентрации метаболитов липидного и углеводного обмена констатировать сложно.

Неомилдронат (ГББ 30 мг/кг совместно с милдронатом 120 мг/кг) после 10 и 20 дней внутрибрюшинного введения крысам с экспериментальным гипотиреозом не влиял на уровень тиреоидных гормонов в сыворотке крови крыс; при этом не проявлялось отрицательного действия одной из составных частей композиции – ГББ при длительном (20 дней) введении.

Концентрация СЖК в сыворотке крови крыс, получавших неомилдронат в течении 10 и 20 дней, была почти в два раза выше, чем у интактных крыс. Вероятно, здесь проявляется эффект милдроната как ингибитора β -окисления СЖК. Наряду с этим наблюдается высокая концентрация глюкозы.

Следует отметить, что ГББ при длительном (20 дней) введении, действует неблагоприятно (уровень T_4 был ниже, чем в других группах).

Во второй серии опытов гипотиреоз у крыс пытались вызывать длительным (4–11 недель) введением больших доз (до 1 г/кг в день) L-карнитина, руководствуясь сообщением [4], где показано, что L-карнитин является периферическим антагонистом тиреоидных гормонов. Результаты представлены на рисунках 2 и 3.

После внутрибрюшинного введения L-карнитина в дозе 1 г/кг в течении 11 недель (суммарная доза L-карнитина 77 г/кг) наблюдалось снижение уровня T_4 в сыворотке крови крыс по сравнению с этим же показателем у интактных крыс (см. рис. 2, 3.3. группы).

Однако почти такой же результат наблюдался у крыс, которые для контроля получали инъекции 0,9% NaCl (2 мл/кг, в/бр) в течении 11 недель (см. рис. 2 и 3, 2.4. группы).

Введение милдроната (150 мг/кг, в/бр) мы начинали на 7-ой неделе после введения L-карнитина (1 г/кг, в/бр), когда была достигнута суммарная доза L-карнитина 42 г/кг. Милдронат вводили в течении 10 и 20 дней.

Если сопоставить результаты, полученные при указанной постановке опыта с данными, полученными в экспериментальной группе 4, в которой после 6 недель введения L-карнитина сделали трёхнедельный перерыв, то милдронат при 10-дневном введении имел тенденцию повышать уровень T_4 в сыворотке крови крыс (концентрация T_4 выше нормы), а при 20-дневном введении снижать уровень T_4 (см. рис. 2). Концентрация T_3 в обоих случаях оставалась без изменений.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ И ВЫВОДЫ. Изучение возможностей активного регулирования функций эндокринной системы, в данном случае щитовидной железы, с помощью эндогенных веществ и их производных, здесь – L-карнитин, его производное – милдронат (антиметаболит), γ -бутиробетаин весьма перспективно по многим причинам. Эндогенные вещества и их производные, лимитирующие протекание ряда реакций обмена веществ, могут с помощью

различных механизмов контролировать отдельные этапы биосинтеза и деградации гормонов. Как регуляторы эндогенной природы с известным механизмом своего действия, естественные метаболиты и их антиметаболиты позволяют целенаправленно воздействовать на индивидуальные гормонзависимые ферменты и процессы. Современная метаболическая терапия, основанная на использовании естественных метаболитов или их производных, выгодно отличается от традиционного применения ксенобиотических лекарственных средств, своей предсказуемостью и более лёгкой контролируемостью [11].

Как известно, при гипертиреозе липидный метаболизм усилен. Изучение милдроната - ингибитора биосинтеза L-карнитина, как перспективного лечебного средства при гиперфункции щитовидной железы, основывается на его способности подавлять β -окисление СЖК [2] и ряд других перспективных в терапевтическом плане эффектов [3].

Известно также что липидный метаболизм при гипотиреозе подавлен. Действие L-карнитина и T_3 на процесс β -окисления жирных кислот однозначно – его обеспечение и интенсификация.

О механизме действия метаболически активного тиреоидного гормона трийодтиронина (T_3) известно следующее: T_3 повышает скорость β -окисления жирных кислот, проникая в ядро той или другой периферической клетки (фибробласты, гепатоциты, нейроны) [4], гормон вызывает увеличение м-РНК γ -бутиробетаингидроксилазы, которая катализирует образование L-карнитина из ГББ. При наличии в организме экзогенного ГББ (вводили *per os* длительно) возникает избыток L-карнитина, что отмечено и другими авторами [4]. Таким же образом T_3 повышает не только активность ББГ, но и других ферментов β -окисления, таких как карнитинпальмитилтрансфераза-1 (CPT-1) и транслоказа [5]. Однако взаимодействие L-карнитина и T_3 может оказаться более сложным. Так, в последнее время L-карнитин изучают как антигипотиреозное средство [4]. L-карнитин кроме этого, действует как периферический антагонист утилизации T_3 , препятствуя проникновению T_3 в ядро клеток-эффекторов [4].

При снижении L-карнитина, T_3 имеет “больше шансов” проявлять свою активность. T_3 в большем количестве проникает в ядро клетки мишени, активирует β -окисление жирных кислот, заторможенное при гипотиреозе. Кроме этого, под действием милдроната возникает не только дефицит L-карнитина, но наряду с этим, создаётся избыток его предшественника – ГББ, отличающегося от L-карнитина отсутствием одной -ОН группы в β -положении. Есть указания, что ГББ может действовать как антагонист L-карнитина [12]. Из-за структурного сходства ГББ может препятствовать действию L-карнитина. В таком случае L-карнитин не мешает проникновению T_3 в ядро клетки-мишени и T_3 реализует своё действие на генном уровне, повышая экспрессию энзимов β -окисления длинноцепочечных жирных кислот. Этот процесс полезен при гипотиреозе, когда липидный метаболизм замедлен.

Таким образом, милдронат и комбинацию милдроната с ГББ „Неомилдронат” можно рассматривать в качестве вероятного регулятора липидного обмена (β -окисления) как при гипер-, так и гипотиреозе. Результат зависит от мониторинга дозовых режимов, длительности курса лечения, схемы лечения.

Милдронат в дозе 150 мг/кг (в/бр) при введении крысам линии Вистар, имеющим повышенный уровень тиреоидных гормонов в сыворотке крови и увеличенный базальный метаболизм, после 20-дневного курса нормализует уровень тироксина и липидный метаболизм.

В исследованных моделях гипотиреоза нам не удалось выявить позитивного влияния исследованных препаратов на уровень тиреоидных гормонов. Этот вопрос требует дальнейшего изучения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Логунова Л.В., Сутулов Ю.Л., Багатова Ф.Э., Епахиев А.А., Кудзиев И.Г. (1998) Тез. докл. на 4 междунар. конгр. "Иммунореабилитация и реабилитация в мед." Сочи, 5-9 июня 1998, *J. Immunorehabil.*, **8**, 150.
2. Шутенко Ж.В., Мейрена Д.В., Каган Т.И., Сьяксте Н.И., Калвинш И.Я. (1995) *Хим.-фарм. журн.*, **29**, 13-17.
3. Sjakste N., Gutcaits A., Kalvinsh I. (2005) *CSN Drug Reviews*, **11**(2), 151-168.
4. Benvenga S., Ruggeri R.M., Russo A., Lapa D., Campenni A., Trimarchi F. (2001) *Clin. Endocrinol. Metab.*, **86**(8), 3579-3594.
5. Galland S., Georges B., Le Borg F., Conductier G., Dias J.V., Demarquoy J. (2002) *Cell. Mol. Life Sci.*, **59**, 540-545.
6. Quesada A., Sainz J., Wangenstein R., Rodriquez-Gomez I., Vargas F., Osuna A. (2002) *Eur. J. Endocrinol.*, **147**, 117-122.
7. Мурахмедов М.А., Туракулов Я.Х. (1983) *Вестн. АМН СССР*, **2**, 64-69.
8. Ahren B. (2001) *Acta Physiol. Scandinavica*, **171**(2), 161-167.
9. Nikkila E.A., Kekki M. (1972) *J. Clin. Invest.*, **51**, 2103-2114.
10. Mokuno T., Uchimura K., Hayashi R., Nayakawa N., Makino M., Nagata M., Kalizawa K., Sawai G., Kotake M., Oda N., Nakai A., Nagosaka A., Itoh M. (1990) *J. Endocrinol.*, **160**, 285-289.
11. Кравченя Н.А., Гореништейн Б.И., Дежурова Г.А., Лукашик Н.К., Островский Ю.М. (1989) *Пробл. эндокринол.*, **35**, 64-68.
12. Ito F., Frankel G. (1957) *J. Gen. Physiol.*, **41** (2), 279-288.

Поступила: 23. 04. 2007.

THE EFFECT OF MILDRONATE AND RELATED SUBSTANCES ON LEVELS OF THYROID HORMONES AND SOME INTERMEDIATES OF LIPID AND CARBOHYDRATE METABOLISM IN THE HYPERTHYROID AND HYPOTHYROID RATS

J. Sharipova^{1,2}, E. Salna^{1,2}, M. Dzintare¹, L. Lauberte¹, D. Meirena¹, N. Sjakste^{1,2}, V. Gordjushina², I. Kalvinsh¹

¹Latvian Institute of Organic Synthesis, Aizkraukles iela, 21, Riga LV 1006, Latvia; tel: +371 7038120; fax: +371 7550338; e-mail: Nikolajs.Sjakste@lu.lv; sjakste@osi.lv

²Faculty of Medicine, University of Latvia, Sharlotes iela, 1a, Riga LV-1001, Latvia

We have investigated effects of Mildronate, gamma-butyrobetaine (GBB) and their combination ("Neomildronate") on the plasma levels of thyroid gland hormones and some intermediates of basal metabolism (free fatty acids, triglycerides, glucose) in rats with different dysfunctions of thyroid gland, including idiopathic hyperfunction and hypofunction induced by propylthiouracil or L-carnitin administration. Histological investigation of the thyroid gland was also performed. Intraperitoneal injections of Mildronate (150 mg/kg) during 20 days to Wistar male rats with elevated level of thyroid hormones and basal metabolism normalized thyroxine level and parameters of lipid metabolism. Mildronate, GBB and their combination did not affect the natural resurgence of rats with experimental hypofunction induced by propylthiouracil or L-carnitin administration. The possible biochemical role of given treatment in regulation of thyroid gland function is discussed.

Key words: mildronate and its derivatives, rat thyroid gland dysfunction, experimental models, thyroid hormones, intermediate products of basal metabolism in blood serum.