

ВЛИЯНИЕ СУХОГО ЭКСТРАКТА ЛАМИНАРИИ ЯПОНСКОЙ НА СТРУКТУРУ И ФУНКЦИЮ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Демидова М.А., Петрова М.Б., Савчук И.А.

ГБОУ ВПО «Тверская государственная медицинская академия», Тверь, Россия (170000, г. Тверь, ул. Советская, 4). E-mail: Itabira@yandex.ru

Перспективным направлением является создание йодсодержащих лекарственных средств на основе крупной морской бурой водоросли ламинарии японской (*Laminaria japonica* Aresch.). В экспериментах на мышах (n=30) была проведена оценка морфологических изменений в структуре щитовидной железы под влиянием экстракта ламинарии японской (45 мг/кг и 750 мг/кг). Отмечено, что при ежедневном внутрижелудочном введении экстракта ламинарии в дозах 45 мг/кг и 750 мг/кг у подопытных животных развивались выраженные изменения структуры щитовидной железы, которые характеризовались увеличением площади крупных фолликул в 1,6 раза, средних фолликул в 1,6 и 1,5 раза соответственно. Оценку влияния экстракта ламинарии японской сухого на функцию щитовидной железы проводили в эксперименте на кроликах (n=12). Установлено, что внутрижелудочное введение экстракта ламинарии (750 мг/кг) приводило к увеличению уровня трийодтиронина общего в 1,3 раза, тетраiodтиронина общего и свободного в 1,5 и 1,3 раза соответственно.

Ключевые слова: кролики, крысы, морфологические изменения структуры щитовидной железы, уровень тиреоидных гормонов.

EFFECT OF EXTRACT LAMINARIA JAPANESE ON STRUCTURE AND FUNCTION OF THYROID GLAND

Demidova M.A., Petrova M.B., Savchuk I.A.

Tver State Medical Academy, Tver, Russia (17000, Tver, Sovetskaya Street 4). E-mail: Itabira@yandex.ru

One perspective direction is the creation of iodine-containing drugs based on large marine brown alga *Laminaria japonica* Aresch). In experiments on mice (n = 30) there was held estimation of morphological changes in thyroid gland structure under the influence of *Laminaria japonica* extract (45 mg/kg and 750 mg/kg). It was noted that the daily intragastric administration of *Laminaria japonica* extract in doses of 45 mg/kg and 750 mg/kg on experimental animals led to noticeable changes in the thyroid gland structure. The changes can be characterized by increase in the area of large follicles in 1,6 times, average follicles in 1,6 and 1,5 times, respectively. In experiments on rabbits (n=12) there was made assessment of influence of dry *Laminaria japonica* extract on thyroid gland function. It was stated, that intragastric administration of *Laminaria japonica* extract (750 mg/kg) led to an increase of total tetraiodothyronine level in 1,3 times, and tetraiodothyronine total and free in 1,5 and 1,3 times respectively.

Keywords: rabbits, rats, morphological changes in the structure of the thyroid gland, level of thyroid hormones.

Введение

Большая часть территории Российской Федерации находится в зоне риска развития йододефицитных заболеваний. Фактическое потребление йода жителем России составляет 40–80 мкг/сут., что в 2–3 раза меньше рекомендуемой нормы, распространенность эндемического зоба в России составляет от 15 до 40%, а в отдельных регионах до 80% [1]. Спектр йододефицитных заболеваний весьма широк и, помимо патологии щитовидной железы, в него входит целый ряд гинекологических, акушерских и неврологических заболеваний. Причем наиболее тяжелые состояния, связанные с дефицитом йода, ассоциированы с внутриутробными нарушениями развития плода. К ним относятся:

эндемический кретинизм, неонатальный зоб, гипотиреоз, различные врожденные аномалии [1; 4]. По определению все йододефицитные заболевания могут быть предотвращены, тогда как изменения, вызванные нехваткой йода на этапе внутриутробного развития и в раннем детском возрасте, являются необратимыми и практически не поддаются лечению и реабилитации [7].

Все мероприятия по профилактике йододефицитных заболеваний основаны на обеспечении физиологического уровня потребления йода. Существуют две формы профилактики йододефицита – массовая и индивидуальная. Массовая (популяционная) профилактика проводится путем реализации населению йодированной соли и использования ее в пищевой промышленности, в связи с чем охватывает разные слои населения. Индивидуальная (или групповая) профилактика в основном ориентирована на группы населения, для которых дефицит йода наиболее опасен (прежде всего, дети до 2 лет, беременные и кормящие женщины). С этой целью наряду с употреблением йодированной соли ВОЗ рекомендует использовать лекарственные препараты с содержанием йода в необходимых дозировках [2]. Примером таких препаратов могут быть как лекарственные средства: препараты калия йодида (Йодомарин, Йодбаланс), витаминно-минеральные комплексы (Витрум, Мульти-табс и др.), так и различные биологически активные добавки (Йод-актив, Кламин и др.), а также морские водоросли.

Перспективным направлением является создание йодсодержащих лекарственных препаратов на основе крупной морской бурой водоросли ламинарии японской (*Laminaria japonica* Aresch.). Современной формой переработки лекарственного растительного сырья является получение сухих экстрактов. Эту лекарственную форму отличает точность дозирования, удобство применения, стойкость к микробной контаминации, достаточно длительный срок годности. Новой лекарственной формой ламинарии японской является экстракт сухой (ООО НПО «Биомедицинские инновационные технологии», Россия), в состав которого входят альгиновые кислоты (26,71%), аминокислоты (11,1%), йод (0,0263%), который находится в экстракте преимущественно в виде йодидов и органически связанного йода [3].

Целью настоящего исследования явилось изучение влияния сухого экстракта ламинарии японской на строение и функцию щитовидной железы.

Материалы и методы

Для исследования использовали сухой экстракт ламинарии японской, который получали в ООО НПО «Биомедицинские инновационные технологии». Показатели качества и технологические характеристики полученного экстракта сухого полностью

соответствовали требованиям нормативной документации на данную лекарственную форму. Влияние сухого экстракта ламинарии японской на строение щитовидной железы оценивали в эксперименте на крысах ($n=30$) обоего пола массой 250–300 г. Подопытных животных содержали в условиях вивария (с естественным режимом освещения; при температуре 22–24°; относительной влажности воздуха 40–50%) с использованием стандартной диеты (ГОСТ Р 50258-92). Исследования проводили в соответствии с правилами качественной лабораторной практики при проведении доклинических исследований в РФ (ГОСТ Р 51000.3-96 и 1000.4-96), а также правилами и Международными рекомендациями Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых при экспериментальных исследованиях (1997). Перед постановкой эксперимента животные проходили карантин в течение 10–14 дней [5; 6].

В первой серии опытов подопытные крысы получали внутрижелудочно ежедневно в течение месяца экстракт ламинарии японской сухой в дозе 750 мг/кг (в пересчете на молекулярный йод 197 мкг/кг). Во второй серии опытов подопытные крысы получали экстракт ламинарии японской в дозе 45 мг/кг (в пересчете на молекулярный йод 11,92 мкг/кг), что соответствовало рекомендованной ВОЗ дозе йода. Максимальный объем растворителя для внутрижелудочного введения препарата составил 6 мл. Животные контрольной группы ($n=10$) получали внутрижелудочно изотонический раствор натрия хлорида в том же объеме, что и подопытные крысы.

На 31-й день животных под эфирным наркозом забивали и исследовали морфологическую структуру щитовидной железы. Для световой микроскопии фиксацию объектов проводили в жидкости Буэна при комнатной температуре в течение 24 часов. После стандартной гистологической проводки материал заливали в парафин. Парафиновые срезы толщиной 5 мкм окрашивали гематоксилин-эозином. На световом уровне с помощью окуляр-микрометра измеряли величину фолликулов щитовидной железы, коллоида, высоту тироцитов и диаметр их ядер.

Оценку влияния сухого экстракта ламинарии японской на функцию щитовидной железы проводили в эксперименте на кроликах ($n=12$) обоего пола, массой $3,8\pm 0,1$ кг. Перед началом эксперимента все подопытные животные были разделены на 2 группы. В первую группу вошли кролики, получавшие внутрижелудочно экстракт ламинарии японской в дозе 750 мг/кг (в пересчете на молекулярный йод 197 мкг/кг) ежедневно в течение 30 дней. Интактные животные, получавшие изотонический раствор натрия хлорида, составили группу контроля.

Изменение функции щитовидной железы контролировали по уровню гормонов трийодтиронина (T_3) и тетрайодтиронина (T_4). Биохимические исследования выполняли в

начале и в конце эксперимента, забор крови осуществляли из краевой вены уха в объеме 3–4 мл.

Содержание гормонов определяли методом иммуноферментного анализа, используя тест-системы (Beckman Coulter, США) с аналитической чувствительностью 0,5 мкг/л. Результаты иммуноферментного анализа учитывали с помощью иммунохимического анализатора Access (Beckman Coulter, США).

Результаты исследования обработаны статистически с применением стандартного пакета программ Microsoft Office Excel 2007. Размер выборки для сравнительного исследования при 5%-ном уровне значимости рассчитывали с использованием программы COMPARE 2 Version 2.57 WinPEPI 11.0. Для ряда выборок вычисляли среднюю арифметическую и среднюю квадратическую ошибку. Определение нормальности распределения переменных проводили на основании гистограмм распределения, величины асимметрии и эксцессы. Для оценки достоверности различий выборок применяли параметрические и непараметрические методы. За достоверное принимали различие при уровне вероятности 95% и более ($p < 0,05$).

Результаты и обсуждение

В результате проведенного исследования было обнаружено, что при внутрижелудочном введении сухого экстракта ламинарии японской в дозах 45 мг/кг и 750 мг/кг в течение 30 дней подопытным животным развивались выраженные изменения структуры и функции щитовидной железы. Так, было отмечено увеличение общей площади фолликулов и площади коллоида щитовидных желез у подопытных животных по сравнению с контролем (табл. 1). Выявлено выраженное уменьшение высоты тироцитов, тогда как достоверного изменения диаметра их ядер обнаружено не было (рис. 1).



Рис. 1. Морфологическая структура щитовидной железы: слева – контроль; в центре – экстракт ламинарии 45 мг/кг; справа – экстракт ламинарии 750 мг/кг; увеличение – 40x15; окраска – гематоксилин-эозин.

Таблица 1 – Влияние экстракта ламинарии японской на структуру щитовидной железы

Исследуемый показатель	Серия опытов		
	Изотонический раствор натрия хлорида	Экстракт ламинарии 45 мг/кг	Экстракт ламинарии 750 мг/кг
Характеристика фолликул:			
Форма	Округлая и неправильной многоугольной формы	Округлая и неправильной многоугольной формы	Округлая и неправильной многоугольной формы
Площадь самых крупных кистозных фолликул, мкм ²	400,0±31,6	639,2±63,2*	654,0±76,7*
Площадь средних фолликул, мкм ²	251,5±29,0	401,6±53,7*	387,6±27,4*
Площадь самых мелких фолликул, мкм ²	155,4±25,8	157,3±25,6	218,8±28,6
Площадь коллоида самых крупных фолликул, мкм ²	132,6±27,7	320,3±28,6*	408,8±44,7*
Площадь коллоида средних фолликул, мкм ²	54,7±5,8	122,6±20,2*	195,0±26,1*#
Площадь коллоида самых мелких фолликул, мкм ²	38,8±8,1	36,9±6,1	80,0±20,4*#
Характеристика тироцитов:			
Высота, мкм	4,26±0,34	3,05±0,28*	2,13±0,30*#
Диаметр ядер, мкм	1,78±0,27	1,85±0,23	1,55±0,27
Форма	кубическая	кубическая	кубическая

* – различия с контролем (изотонический раствор натрия хлорида) достоверны ($p < 0,05$);
- различия с экстрактом ламинарии японской сухой (45 мг/кг) достоверны ($p < 0,05$).

Следует отметить, что после 4 недель внутрижелудочного введения сухого экстракта ламинарии японской (45 мг/кг) было отмечено увеличение общей площади самых крупных кистозных фолликул в 1,6 раза ($p < 0,05$) по сравнению с контролем. Общая площадь крупных фолликул щитовидных желез животных, получавших экстракт ламинарии японской в дозе 750 мг/кг, составила $654,0 \pm 76,7$ мкм², что было в среднем в 1,6 раза ($p < 0,05$) больше, чем в контроле. Обращает на себя внимание тот факт, что площади фолликул среднего размера в первой и второй серии опытов увеличились в 1,5 и 1,6 раза ($p < 0,05$) соответственно, по сравнению со значениями данного показателя в контрольной группе. Достоверных изменений площади самых мелких фолликул обнаружено не было.

Одновременно с изменениями площади фолликул щитовидных желез подопытных животных, получавших экстракт ламинарии японской сухой в дозе 45 мг/кг, было выявлено увеличение площади коллоида крупных кистозных фолликул в 2,4 раза ($p < 0,05$). Внутривентрикулярное введение экстракта ламинарии японской в дозе 750 мг/кг приводило к увеличению площади коллоида крупных фолликул в 2,7 раза ($p < 0,05$). Площадь коллоида в фолликулах среднего размера под влиянием сухого экстракта (45 мг/кг) составила $122,6 \pm 20,2$ мкм², что было в среднем в 2,2 раза ($p < 0,05$) больше, чем в контроле. Следует отметить, что внутривентрикулярное введение экстракта в дозе 750 мг/кг приводило к увеличению площади коллоида средних фолликул в 3,6 раза ($p < 0,05$). Достоверных изменений площадей коллоида мелких фолликул обнаружено не было.

Обращает на себя внимание тот факт, что общие площади фолликул щитовидных желез подопытных животных, получавших экстракт ламинарии японской в дозах 45 мг/кг и 750 мг/кг, достоверно не отличались. Тогда как площади коллоида средних и самых мелких фолликул под влиянием экстракта ламинарии японской (750 мг/кг) превышали значения данных показателей при внутривентрикулярном введении экстракта ламинарии в дозе 45 мг/кг в 1,6 и 2,2 раза ($p < 0,05$) соответственно.

Кроме изменений площадей коллоида и фолликул, было выявлено достоверное уменьшение высоты тироцитов при введении сухого экстракта в дозах 45 мг/кг и 750 мг/кг соответственно в 1,4 раза ($p < 0,05$) и в 2 раза ($p < 0,05$) по сравнению с контролем. Следует отметить, что высота тироцитов под влиянием экстракта (750 мг/кг) составила $2,13 \pm 0,30$ мкм, что в среднем было ниже значения данного показателя под влиянием экстракта ламинарии японской в дозе 45 мг/кг в 1,4 раза ($p < 0,05$). Достоверных изменений в диаметре ядер тироцитов в двух сериях опытов и группе контроле не было обнаружено.

При внутривентрикулярном введении сухого экстракта ламинарии японской (750 мг/кг) в течение 30 дней у подопытных кроликов развивались выраженные изменения уровня гормонов щитовидной железы, которые характеризовались повышением содержания трийодтиронина общего, тетраiodтиронина общего и свободного (табл. 2).

Таблица 2 – Влияние экстракта ламинарии японской на уровень гормонов щитовидной железы

№	Исследуемый показатель		Единицы измерения	Серия опытов	
				до опыта	через 1 месяц
1	Т ₃	общий	нг/мл	0,71±0,07	0,95±0,05*
		свободный	пг/мл	2,79±0,35	2,853±0,19
2	Т ₄	общий	нмоль/л	27,76±4,1	40,63±2,14*

	свободный	пмоль/л	9,37±0,97	12,18±1,81*
--	-----------	---------	-----------	-------------

* – различия с контролем (изотонический раствор натрия хлорида) достоверны ($p < 0,05$).

Было выявлено, что уровень трийодтирона общего в крови кроликов постепенно увеличивался и через 4 недели наблюдения составил $0,95 \pm 0,05$ нг/мл, что в среднем было в 1,3 раза ($p < 0,05$) выше, чем у интактных животных. Содержание тетраiodтирона общего и свободного через 4 недели исследования возросло соответственно в 1,5 раза ($p < 0,05$) и в 1,3 раза ($p < 0,05$) по сравнению с исходным уровнем. Достоверных изменений содержания трийодтирона свободного в крови кроликов, получавших экстракт ламинарии японской сухой, в течение всего срока наблюдения обнаружено не было.

Таким образом, результаты экспериментального исследования показали, что применение сухого экстракта ламинарии японской приводит к увеличению функциональной активности щитовидной железы, что подтверждается изменениями в уровне тиреоидных гормонов и изменениями в морфологической структуре щитовидной железы. Обращает на себя внимание тот факт, что применение экстракта ламинарии в дозе, на порядок превышающей суточную потребность в йоде (750 мг/кг, в пересчете на молекулярный йод 197 мкг/кг), не вызывает проявлений йодизма. Морфологические изменения в структуре щитовидной железы носят тот же характер, что и при применении экстракта ламинарии в терапевтической дозе (по йоду). Приведенные данные свидетельствуют о безопасности использования препаратов ламинарии, содержащих органически связанный йод, в широком диапазоне доз. Возможно, это связано с тем, что органически связанный йод не кумулирует в организме, а при повышенном его поступлении выводится с мочой. Это уменьшает риск развития побочных эффектов, вызываемых препаратами неорганического йода, среди которых такие проявления йодизма, как отек слизистой оболочки носа, крапивница, лихорадка, угри, отек слюнных желез, отек Квинке, эозинофилия, шок. Возможны также тахикардия, раздражительность, нарушения сна, повышенное потоотделение, диарея.

Выводы

1. При ежедневном внутрижелудочном введении сухого экстракта ламинарии японской в дозах 45 мг/кг и 750 мг/кг у подопытных крыс развивались выраженные изменения морфологической структуры щитовидной железы, которые характеризовались увеличением площади крупных и средних фолликул в среднем в 1,6 раза; площади коллоида крупных фолликул соответственно в 2,4 и 2,7 раза и уменьшением высоты тироцитов соответственно в 1,4 и 2 раза.

2. Под влиянием экстракта ламинарии (750 мг/кг) уровень общего трийодтиронина в крови кроликов увеличивался в среднем в 1,3 раза, а тетраiodтиронина общего и свободного в 1,5 и 1,3 раза соответственно.

Список литературы

1. Абдулхабирова Ф.М. Йододефицитные заболевания и беременность // Гинекология. – 2006. – Т. 8. – № 2 [Электронный ресурс]. – URL: http://old.consilium-medicum.com/media/gynecology/06_02/54.shtml (дата обращения 10.03.2012).
2. Абдулхабирова Ф.М. Профилактика йоддефицитных заболеваний у детей // Consilium medicum. – 2010. – Т. 12. – № 12. – С. 72-76 [Электронный ресурс]. – URL: <http://www.consilium-medicum.com/magazines/cm/medicum/article/20444> (дата обращения: 10.03.2012).
3. Демидова М.А. [и др.] Влияние экстракта ламинарии японской на течение экспериментальной гиперлипидемии у кроликов // Врач-аспирант. – 2011. – № 5.4 (48). – С. 560-565.
4. Драгун И.Е., Дубровина Н.В., Твердикова М.А. Профилактика йододефицитных заболеваний у беременных // РМЖ. – 2010. – Т. 18. – № 4 [Электронный ресурс]. – URL: http://www.rmj.ru/articles_6996.htm (дата обращения: 10.03.2012).
5. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / под общ. ред. чл.-корр. РАМН проф. Р.У. Хабриева. – 2-изд., перераб. и доп. – М. : Медицина, 2005. – 832 с.
6. Сернов Л.Н., Гацура В.В. Элементы экспериментальной фармакологии. – М. : ВНЦ БАН, 2000. – 352 с.
7. Трошина Е.А., Абдулхабирова Ф.М., Секинаева А.В., Мельниченко Г.А. Профилактика дефицита йода у беременных и кормящих женщин // Consilium medicum Ukraina. – 2010. – № 16 [Электронный ресурс]. – URL: <http://www.consilium-medicum.com.ua/issues/1/65/518/> (дата обращения 09.03.2012).

Рецензенты

Новиков В.Е., д.м.н., профессор, заведующий кафедрой фармакологии с курсом фармации ФПК и ППС Смоленской государственной медицинской академии, г. Смоленск.

Платонов И.А., д.м.н., профессор кафедры фармакологии с курсом фармации ФПК и ППС Смоленской государственной медицинской академии, г. Смоленск.