

## ОСОБЛИВОСТІ ФОРМУВАННЯ АДЕКВАТНОЇ МОДЕЛІ ГІПОТИРЕОЗУ В ЕКСПЕРИМЕНТІ НА БІЛИХ ЩУРАХ

Дніпропетровська державна медична академія

В останні роки захворювання щитоподібної залози стають загальнобіологічним явищем, що визначається, перш за все, розповсюдженням різного ступеня їх гіпер- і гіпофункції, аутоімунних й онкологічних уражень цього органа, їх залежністю від навколишнього екологічного середовища [1]. За своєю частотою ці захворювання виходять на перше місце серед ендокринної патології та часто формують клінічні розлади інших систем організму, таких як серцево-судинна, травна, центральна та периферична нервові системи [2].

За останні два–три десятиріччя кількість хворих із тиреопатологією в Україні зросла в 3,7 разу, з 0,9 до 3,3 тис. на 100 тис. населення [3]. Це зумовлено, насамперед, погіршенням екологічної та соціально-економічної обстановки та йододефіцитом у деяких районах [4]. Дані фактори призводять до порушень у гіпоталамо-гіпофізарно-тиреоїдній системі, які проявляються тиреопатичними розладами [2] і, у першу чергу, збільшенням у структурі захворювань щитоподібної залози гіпотиреоїдних станів [1].

З метою детального вивчення вищевказаних станів у експерименті на тваринах нині існують кілька способів моделювання гіпотиреозу. Вони мають, окрім важливих переваг, і певні недоліки, такі як значний відсоток летальності серед піддослідних тварин у процесі відтворення експериментального гіпотиреозу, високий ступінь травматизації самої щитоподібної залози, який унеможливорює

повне відновлення її функції після експерименту, а також можуть мати негативний вплив на дослідника (наприклад, метод із використанням радіоізотопів) [5; 6].

**Метою** нашого дослідження була розробка власного модифікованого способу моделювання гіпотиреоїдного стану (подана заявка на патент — № u 2008 15151) з його подальшою морфолого-біохімічною верифікацією.

### Матеріали та методи дослідження

Дослідження виконані у зимово-весняний період на 30 білих щурах-самцях лінії Вістар масою 200–220 г, які були розділені на дві групи. Перша група (15 щурів) — модель гіпотиреозу, друга (15 щурів) — контрольна. Для моделювання гіпотиреозу використовували тиреостатичний препарат тіокарбамідної групи — мерказоліл. Відомо, що під його впливом щитоподібна залоза поглинає йод, але не використовує його у біосинтезі тиреоїдних гормонів [7]. Тиреостатичний ефект препарату пояснюють пригніченням активності ферментів тиреоцитів (цитохромоксидази і, особливо, пероксидази), що беруть участь у окисненні йодидів до атомарного йоду, подальшим інгібуванням йодування тирозину та перетворення йодотирозинів у йодотироніни, тобто блокуванням кінцевих стадій гормоногенезу [7]. Для формування експериментального гіпотиреозу даний тиреостатичний препарат вводили щодня, шляхом

внутрішньоочеревинної ін'єкції, протягом 30 діб і, на відміну від відомих аналогів, застосовували схему поступового нарощення дози. Початкова доза препарату дорівнювала 1 мг/100 г маси тіла тварини. Кожні 5 діб дозу препарату збільшували на 0,5 мг/100 г з метою уникнення «ефекту звикання» до дії означеного фармакологічного засобу. Таким чином, з 1-ї по 5-ту добу моделювання доза мерказолілу становила 1 мг/100 г, з 6-ї по 10-ту добу — 1,5 мг/100 г, з 11-ї по 15-ту добу — 2 мг/100 г, з 16-ї по 20-ту добу — 2,5 мг/100 г, з 21-ї по 25-ту добу — 3 мг/100 г, з 26-ї по 30-ту добу — 3,5 мг/100 г. Використовували препарат Мерказоліл-Здоров'я (Thiamazole), розчинений у фізіологічному розчині, добова доза якого вводилася одноразово. Тваринам контрольної групи протягом 30 діб внутрішньоочеревинно вводили по 1 мг фізіологічного розчину. Експерименти були виконані з дотриманням вимог Європейської конвенції про захист хребетних тварин [8].

Одним із методів оцінювання ефективності відтворення означеної моделі гіпотиреозу був імуноферментний аналіз із використанням стандартних наборів і методик [9]. За допомогою цього методу визначали концентрацію тироксину ( $T_4$ ) та тиреотропного гормону (ТТГ) у сироватці крові щурів [9].

Для верифікації стану щитоподібної залози також були застосовані морфологічні методи її оцінки [10]. Щитоподібні залози фіксували в 10%-му розчині



формаліну, який був забуферений за Ліллі при рН 7,4, та заливали в парафін за загальноприйнятою методикою. Парафінові зрізи завтовшки 5 мкм забарвлювали гематоксиліном та еозином і вивчали на світлооптичному рівні. Мікрофотограми були виконані за допомогою мікроскопа Leica DMLS (Німеччина).

Проведено стереометричне дослідження об'ємних часток: паренхіми, строми з судинами залози, одного фолікула, тироїдного епітелію одного фолікула, ядер тироцитів, кількості тироїдних фолікулів на одиницю площі зрізу щитоподібних залоз — за рекомендаціями Г. Г. Автанділова з окулярною сіткою зі 100 тест-точками [10].

Статистичну обробку одержаних даних проводили за допомогою ліцензійного програмного пакета MS EXCEL з визначенням вірогідності результатів за t-критерієм Стьюдента, при цьому зміни тієї чи іншої ознаки оцінювали як вірогідні при  $P < 0,05$ .

### Результати дослідження та їх обговорення

Було встановлено, що рівень  $T_4$  у щурів, які отримували ін'єкції мерказолілу за розробленою нами методикою, знижувався у 2,5 рази порівняно з контрольними тваринами ( $(87,33 \pm 3,02)$  нмоль/л) і становив  $(34,94 \pm 1,18)$  нмоль/л, а рівень ТТГ збільшувався у 5,5 рази і дорівнював у середньому  $(1,52 \pm 0,11)$  мкЕ/л (у контрольних тварин ТТГ —  $(0,28 \pm 0,02)$  мкЕ/л), що є прямим підтвердженням достатньої адекватності відтворення моделі гіпотиреозу. Це також підтверджується і мікроскопічним аналізом.

Проведене гістологічне дослідження щитоподібних залоз інтактних тварин свідчить про асинхронність морфофункціональної активності тироїдного епітелію у межах часточки, частки органа, яка проявляється

в легкому ступені варіабельності розмірів її фолікулів і тироцитів (рис. 1) [11].

На периферії часточки в основному переважають великі фолікули, в центрі її — середні та дрібні фолікули з переважанням середніх, але й у центрі часточки можна виявити поодинокі великі фолікули. Вони переважно округлі, овальні або куласті за формою. Колоїд у більшості з них гомогенний, оксифільний. У великих фолікулах колоїд менше забарвлений. Висота клітин фолікулярного епітелію свідчить про нормальну помірну діяльність залози. У середніх і дрібних фолікулах тироїдний епітелій кубічний з округлими ядрами клітин (див. рис. 1). У великих фолікулах епітелій низький кубічний або сплющений, а ядра тироцитів при цьому також набувають овальної форми, тобто розташовані паралельно базальній мембрані. Це свідчить про їх низьку функціональну активність. У центрі часточки можна виявити поодинокі фолікули з Сандерсенівськими подушками, тобто у стінці фолікула, який вистелений кубічним епітелієм, наявна одна або кілька невеликих ділянок, де клітини епітелію перетворилися на високі призматичні та у вигляді подушок виступають у просвіт. Це клітини з підвищеною функціональною активністю. Хроматин ядер тироцитів розподіляється рівномірно, щільно. Поряд із тироїдними фолікулами подекуди трапляються інтерфолікулярні острівці, тобто компактне скупчення епітелію.

Сполучна тканина у вигляді тонких прошарків розташовується між фолікулами з наявністю помірно розширених судин.

Морфометричні показники щитоподібної залози двох груп експерименту наведені в таблиці.

Під капсулою частки визначається жирова тканина, яка увійшла в літературу під назвою ліпотканела [11]. За даними М. П. Федченко, вона виконує

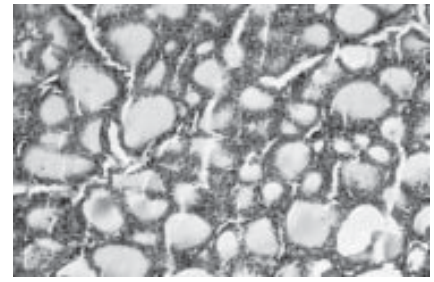


Рис. 1. Щитоподібна залоза інтактного щура. Забарвлення гематоксиліном і еозином.  $\times 400$  (мікрофотограма)

пластичну функцію, тобто її адипоцити (син. ліпоцити) можуть у подальшому диференціюватися в періцити, які утворюють стінку капілярів, а інтерфолікулярні гемокапіляри виконують не тільки трофічну функцію, але і формоутворювальну для фолікула, а також здійснюють активний фолікулогенез щитоподібної залози [11].

На нашу думку, ліпотканела, крім зазначеної функції, виконує й енергетичну, необхідну для всіх синтетичних процесів, які відбуваються у щитоподібній залозі, і навіть для елімінації деструктивних тироцитів, які з'являються при будь-яких впливах на залозу.

У щитоподібних залозах тварин, які виведені з досліду через 30 діб введення мерказолілу, відзначені мікроскопічні зміни, які свідчать про гіпотиреостатичний і гіперпластичний ефект даного препарату, що є доказом ефективності моделі відтворення гіпотиреїдного стану у білих щурів за методикою, що була нами запропонована. Так, у тварин із гіпотиреозом констатована менш виражена варіабельність у розмірах фолікулів у межах часточки, частки залози, у 3 рази зменшився їх об'єм, почали переважати дрібні фолікули (рис. 2, а), об'єм одного фолікула становив  $(7,00 \pm 0,59)$  %, тимчасом як у контрольній групі цей показник дорівнював  $(21,65 \pm 1,73)$  % ( $P < 0,01$ ) (див. таблицю). Збільшилася кількість фолікулів на одиницю площі зрізу залози до



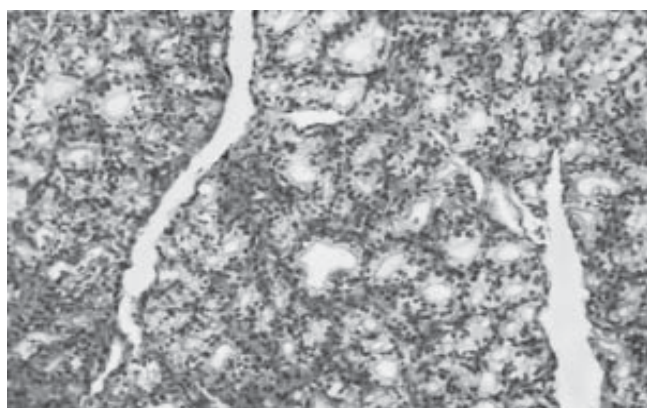
**Морфометричні показники щитоподібних залоз контрольних і піддослідних щурів**

| Група тварин                      | Об'єм паренхіми, %   | Об'єм строми, %      | Об'єм одного фолікула, % | Об'ємна частка епітелію фолікула, % | Об'єм ядер тироцитів, % | Кількість фолікулів на одиницю площі зрізу |
|-----------------------------------|----------------------|----------------------|--------------------------|-------------------------------------|-------------------------|--|
| Контрольна                        | 48,70±3,89           | 51,30±3,89           | 21,65±1,73               | 7,20±0,65                           | 2,60±0,41               | 2,25±0,38                                  |
| Через 30 діб введення мерказолілу | 76,10±3,31<br>P<0,05 | 23,90±3,31<br>P<0,05 | 7,00±0,59<br>P<0,01      | 6,4±0,3<br>P>0,05                   | 4,70±0,44<br>P<0,05     | 7,30±0,72<br>P<0,05                        |

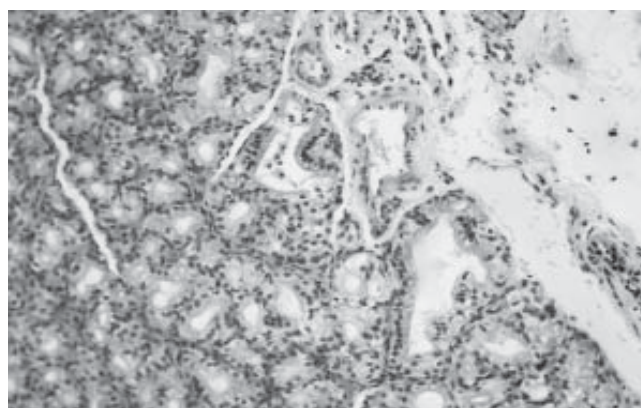
(7,30±0,72) % (P<0,05), тимчасом як цей показник у контрольних тварин становив (2,25±0,38) %. Фолікулоутворення здійснювалося шляхом фрагментації великих фолікулів на кілька дрібних перифолікулярними гемокапілярами зі сполучнотканинними прошарками навколо них (про це свідчить проникнення капіляра в фолікул) і шляхом проліферації тироцитів (рис. 2, б). З'явилися тироїдні фолікули з нерівними контурами їх базальних мембран і просвіту (рис. 2, б), в яких переважали високі кубічні тироцити, виявлялися і циліндричні. Усе це відобразилося на відсотковому показнику кількості паренхіми органа, який вірогідно збільшився до (76,10±3,31) % (P<0,05) порівняно з контрольною групою — (48,70±3,89) %. Значно збільшився об'єм ядер тироцитів (рис. 2, а, б) на відміну від відповідного показни-

ка контрольної групи. Якщо в контролі об'єм ядер становив (2,60±0,41) %, то при введенні мерказолілу — (4,70±0,44) % (P<0,05). При цьому об'ємна частка епітелію одного фолікула під впливом препарату несуттєво зменшилася і дорівнювала (6,4±0,3) %, але різниця порівняно з контрольним показником ((7,20±0,65) %) невірогідна (P>0,05). Відзначена також і осередкова десквамація фолікулярного епітелію. Колоїд як у централобарних, так і в перилобарних фолікулах відсутній (див. рис. 2, а, б). Подекуди розширювалися міжфолікулярні простори за рахунок збільшення площі інтерфолікулярних острівців і розростання сполучної тканини. Більш виражені склеротичні явища були на периферії часточок (див. рис. 2, б), але в середньому об'єм строми залози цієї групи експерименту різко знизився до (23,90±

±3,31) % (P<0,05) порівняно з контролем, що дорівнював (51,30±3,89) %. Якщо в контрольній групі тварин жирова тканина локалізується під капсулою частки, то у цій групі є тенденція до розростання її всередину частки, а окремі адипоцити з'являються і між фолікулами (див. рис. 2, б). Гемокапіляри та великі судини з варіабельним просвітом і кровонаповненням. Поряд із повнокровними трапляються судини вільні від крові, з розширеним і вузьким просвітом. Відмічені також діapedезні крововиливи. Все це свідчить про порушення гемодинаміки у щитоподібній залозі та слугує підтвердженням адекватного відтворення стану гіпотиреозу. Мерказоліл посилює гіперпластичний процес, що призводить до утворення осередків, характерних для паренхіматозного зоба [11].



а



б

Рис. 2. Щитоподібна залоза щура після 30 діб введення мерказолілу: а — менш виражена варіабельність у розмірах фолікулів, переважають дрібні фолікули, відсутній колоїд, забарвлення гематоксилином і еозином, × 400 (мікрофотограма); б — неправильна форма деяких фолікулів із проникненням капілярів у фолікул (капіляр розташований під базальною мембраною), забарвлення гематоксилином і еозином, × 400 (мікрофотограма)

## Висновки

1. Запропонований нами спосіб моделювання гіпотиреоїдного стану шляхом внутрішньоочеревинного введення тиреостатика мерказолілу призводить до різкого порушення регуляції гормоногенезу з боку аденогіпофіза, яке проявилось більш ніж 5,5-кратним збільшенням концентрації тиреотропного гормону в сироватці крові. Посилення стимулювального впливу з боку тиреотрофів передньої частки гіпофіза супроводжується зниженням у 2,5 рази концентрації тироксину. Дана модель, на наш погляд, може бути використана для вивчення механізмів порушень, які виникають за умов гіпофункції щитоподібної залози.

2. Мікроскопічне дослідження з морфометричним аналізом щитоподібної залози підтвердило гіпотиреостатичну та гіперпластичну дію мерказолілу за розробленою методикою його введення, яка проявилася в зменшенні об'ємів фолікулів, відсутності колоїду, збільшенні кількості фолікулів шляхом фрагментації великих фолікулів перифолікулярними капіляра-

ми та шляхом проліферації тироцитів, збільшенні об'єму паренхіми органа й ядер тироцитів і зниженні об'єму тиреоїдного епітелію одного фолікула.

3. У зв'язку з підвищеною потребою щитоподібної залози в енергетичному та пластичному матеріалі, а також для елімінації деструктивних тироцитів при введенні мерказолілу відбуваються розростання жирової тканини ліпотканели в середину частки та поява окремих адипоцитів між тиреоїдними фолікулами.

## ЛІТЕРАТУРА

1. Вацеба А. О. Епідеміологія захворювань щитоподібної залози в умовах йодної недостатності / А. О. Вацеба, В. М. Гаврилук, В. І. Паньків // Лікарська справа. Врачебное дело. — 2002. — № 1. — С. 31-33.

2. Частота захворювань щитовидної залози серед населення України / І. Матасар, М. Голубчиков, В. Водопьянов [и др.] // Ліки України. — 2002. — № 10. — С. 48-53.

3. Vanderpump M. P. Epidemiology and prevention of clinical und subclinical hypothyroidism / M. P. Vanderpump // Thyroid. — 2002. — Vol. 12. — P. 839-847.

4. Кравченко В. І. Основні етапи дослідження йодної недостатності та динаміка її ліквідації в Україні / В. І. Кравченко // Міжнародний ендокрино-

логічний журнал. — 2006. — Т. 1 (3). — С. 40-48.

5. Побічні ефекти тиростатиків / П. М. Боднар, П. І. Діденко, О. В. Щербак [та ін.] // Сучасні проблеми фармакології : 1-й нац. з'їзд фармакологів : тези доп. — Полтава, 1995. — С. 18.

6. Кузьмак Н. І. Влияние тиреостатических препаратов и тиреоидэктомии на содержание сиаловых кислот в сыворотке крови и печени крыс / Н. И. Кузьмак // Вопросы медицинской химии. — 1978. — № 1. — С. 52-57.

7. Калинин А. П. Клинические проявления гипотиреоза / А. П. Калинин, Д. С. Рафибеков, Е. Е. Потемкина // Проблемы эндокринологии. — 1994. — № 4. — С. 21-23.

8. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes // Council of Europe. — Strasbourg, 1986. — 53 p.

9. Комаров С. И. Биохимические исследования в клинике / С. И. Комаров, Б. Ф. Коровкин, В. В. Меньшиков. — 2-е изд. — М. ; Элиста : Джангар, 2004. — 216 с.

10. Автандилов Г. Г. Медицинская морфометрия : руководство / Г. Г. Автандилов. — М. : Медицина, 1990. — 384 с.

11. Федченко Н. Н. Современные аспекты структурно-функциональной организации щитовидной железы / Н. Н. Федченко, А. А. Бондаренко, В. И. Гарец // Український морфологічний альманах. — 2008. — Т. 6, № 1. — С. 161-164.

УДК 612.38-57.042.+615.+616.3

О. В. Сторчило

# ОСОБЛИВОСТІ ФУНКЦІОНАЛЬНОЇ АКТИВНОСТІ ТОНКОЇ КИШКИ НАЩАДКІВ ОПРОМІНЕНИХ ЩУРІВ ЗА РІЗНИХ УМОВ ПРИЖИТТЄВОГО ВПЛИВУ НА БАТЬКІВ

Одеський державний медичний університет

## Вступ

Існування суспільства в умовах підвищеного радіаційного фону визначає необхідність досліджень як негайного впливу іонізуючої радіації на організм

людини, так і віддаленого її ефекту на наступні покоління. Опір організму до впливу іонізуючої радіації та вірогідність виникнення патологічних зрушень значною мірою визначається станом адаптивних сис-

тем — малі дози радіації не справляють негайного ефекту, але сприяють їх повільному виснаженню та руйнуванню. Опромінення призводить до появи розривів у молекулі ДНК, порушень інтерфазного хроматину,

