

## РЕАКЦІЯ ЩИТОПОДІБНОЇ ЗАЛОЗИ СПОНТАННО-ГІПЕРТЕНЗИВНИХ ЩУРІВ НА ДІЮ ДОЗОВАНОЇ НОРМОБАРИЧНОЇ ГІПОКСІЇ В ОСІННІЙ ПЕРІОД\*

Янко Р. В., Березовський В. Я., Жернокльов У. О., Літовка І. Г.

*Інститут фізіології ім. О. О. Богомольця НАН України, Київ  
biolag@ukr.net*

Застосування дозованої нормобаричної гіпоксії (ДНГ) — одна з новітніх методик, що використовується в сучасній медичній практиці для лікування і профілактики ряду захворювань серцево-судинної, дихальної, ендокринної та імунної систем, а також для підвищення фізичної витривалості й адаптаційних можливостей організму [1].

Наукові роботи, присвячені впливу ДНГ на функціональну активність щитоподібної залози (ЩЗ), малочисельні, неоднозначні і часто суперечливі [2–4]. Це може бути пов'язано з використанням в експериментах тварин різних ліній і віку, відмінностями в режимах подачі ДНГ, впливу гіпоксії за умов гіпо- чи нормобарії, сезонністю та тривалістю проведення експериментів тощо. Більшість дослідників вивчали вплив гіпоксії на стан ЩЗ при зниженому атмосфер-

ному тиску [5–9]. Робіт, які були б присвячені дослідженню впливу нормобаричної гіпоксичної газової суміші на паренхіму ЩЗ, обмаль [10].

Більшість досліджень, присвячених впливу ДНГ на стан ЩЗ, проведено на нормотензивних щурах лінії Вістар [5, 8, 11]. Робіт, в яких би досліджувався вплив ДНГ на стан залози у тварин або людей з артеріальною гіпертонією нами не знайдено. Вплив ДНГ на ЩЗ щурів із підвищеним артеріальним тиском може відрізнятися від такого у нормотензивних тварин, що дозволяє вважати дослідження у цьому напрямку актуальним.

Мета роботи — дослідити функціональний стан щитоподібної залози спонтанно-гіпертензивних щурів після впливу саногенної дозованої нормобаричної гіпоксії у осінній період року.

\*Роботу виконано згідно з науковою тематикою Інституту фізіології ім. О. О. Богомольця НАН України «Дослідити механізми регуляції стану елементів сполучної тканини організму при різних рівнях енергетичного метаболізму в клінічних та експериментальних умовах» (№ держреєстрації 0112U008231).

Установою, що фінансує дослідження, є НАН України.

Автори гарантують повну відповідальність за все, що опубліковано в статті.

Автори гарантують відсутність конфлікту інтересів і власної фінансової зацікавленості при виконанні роботи та написанні статті.

Рукопис надійшов до редакції 3.11.2016.

## МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Дослідження проведено на 24 спонтанно-гіпертензивних (лінія SHR) щурах-самцях у осінній період року. На кінець експерименту вік тварин становив 4 місяці. Щурів розподілили на дві групи: I — інтактні тварини, II — щури, які зазнавали впливу ДНГ. Тварини обох груп перебували в уніфікованих умовах зі стандартним раціоном харчування. Щурів дослідної групи розміщували в герметичній камері, в яку за допомогою мембранного газорозподільного елемента, під контролем ротаметрів, подавали газову суміш (12% кисню в азоті) в переривчастому режимі: 15 хвилин деоксигенація / 15 хвилин реоксигенація протягом 2 годин та 22 години дихання атмосферним повітрям. Тривалість експерименту становила 28 днів. Щурів декапітували під легким ефірним наркозом відповідно до вимог міжнародних принципів Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей (Страсбург, 1985).

Функціональну активність ЩЗ оцінювали за допомогою морфологічних, морфометричних та біохімічних методів дослідження.

Із тканини ЩЗ виготовляли гістологічні препарати за стандартною методикою: фіксували в рідині Буена, зневоднювали у спиртах зростаючої концентрації (від 70° до 96°) та діоксані. Отримані зразки заливали в парафін. Парафінові зрізи, завтовшки 5–6 мкм, виготовляли на санному мікромомі, фарбували гематоксиліном Бемера та еозином. Для візуалізації елемен-

тів сполучної тканини застосовували методи дво- та трикольорового забарвлення за Ван-Гізеном та Массоном [12]. З використанням цифрової камери мікропрепарати фотографували на мікроскопі «Nicon» (Японія). Морфометрію здійснювали за допомогою комп'ютерної програми «Image J» [13]. На гістологічних зрізах ЩЗ вимірювали площу поперечного перерізу фолікулів, колоїду та фолікулярного епітелію, визначали ефективний, зовнішній та внутрішній діаметри фолікулів, вимірювали висоту фолікулярного епітелію та ширину прошарків міжчасткової, міжчасточкової та міжфолікулярної сполучної тканини, підраховували кількість тироцитів у фолікулі. Визначали фолікулярно-колоїдний індекс та індекс накопичення колоїду [14, 15].

У сироватці крові щурів визначали концентрацію гормонів ЩЗ: вільного трийодтироніну ( $T_3$ ) та тироксину ( $T_4$ ). Визначення проводили за допомогою стандартних наборів реактивів методом твердофазового конкурентного імуноферментного аналізу із застосуванням моноклональних антитіл («Диагностические системы», Россия).

Статистичний аналіз даних здійснювали за допомогою комп'ютерної програми «ANOVA». Оскільки розподіл даних відповідав закону нормального розподілу, дані в таблиці представлені як середнє арифметичне та його статистична похибка ( $\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$ ). Вірогідність різниці між контрольними і дослідними зразками оцінювали за  $t$ -критерієм Стьюдента.

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Виявлено, що паренхіма ЩЗ щурів після впливу ДНГ має фізіологічну структуру, яка розділяється на центральну і периферичну зони. Залоза як інтактних, так і дослідних тварин містить фолікули овальної та видовженої форми, різної величини (рис. 1). Після дихання щурами гіпоксичної газової суміші виявлено тенденцію до зро-

стання середньої площі поперечного перерізу фолікулів у ЩЗ щурів на 8% порівняно з контролем. Площа фолікулярного епітелію у тварин дослідної групи не змінювалася (табл.). За літературними даними зростання розмірів фолікулів може свідчити про зниження активності ЩЗ. В малоактивному стані у складі залози містяться переважно

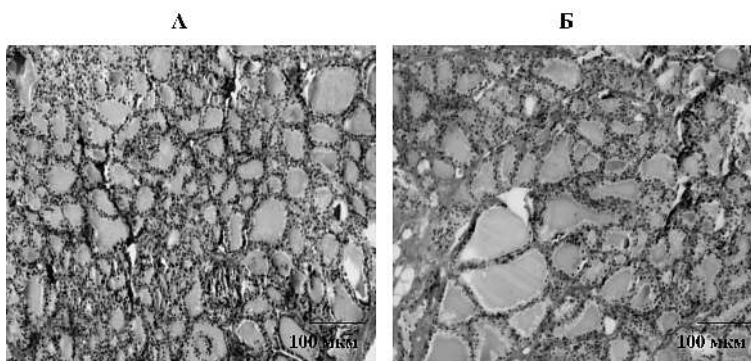


Рис. 1. Мікрофотографія щитоподібної залози контрольної тварини (А) та щура, який зазнавав впливу дозованої нормобаричної гіпоксії (Б). Забарвлення за методом Ван-Гізона. Збільшення 200.

фолікули великого розміру, за рахунок депонування гормонів у середині фолікулів та збільшення об'єму колоїду [15].

В просвіті фолікулів накопичується колоїд, що представляє собою гомогенну в'язку рідину, яка містить переважно тиреоглобулін. Залежно від активності ЩЗ колоїд буває щільним, помірної щільності чи пінистим. При нормофункції колоїд помірної консистенції, в ньому візуалізуються ділянки резорбції, які вказують на витрату частини колоїду. При гіпофункції ЩЗ колоїд стає щільним, без явно виражених резорбційних зон, що свідчить про депонування великої кількості гормонів. За умов гіперфункції

ЩЗ кількість колоїду різко зменшується, часто він стає пінистим та містить багато резорбційних вакуолей [14].

В інтактній групі тварин колоїд у фолікулах має рівномірне рожеве забарвлення, помірну консистенцію з резорбційними вакуолями. Колоїд фолікулів ЩЗ дослідних тварин помірної щільності або щільний з вакуолями. У дослідних щурів відмічено вірогідне збільшення площі колоїду на 19% порівняно з контролем (див. рис. 1; див. табл.). Це дозволяє припускати активацію депонування гормонів у середині фолікулів, а не вивільнення їх в кровоносне русло.

Фолікулярний епітелій утворений тиро-

Т а б л и ц я

Морфометричні показники стану щитоподібної залози контрольних та дослідних щурів, ( $\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$ )

Показник	Контроль (n = 12)	Дослід (n = 12)
Площа, мкм <sup>2</sup>		
— фолікула	2062,00 ± 68,00	2222,00 ± 54,00
— колоїду	751,00 ± 5,90	893,00 ± 66,81*
— фолікулярного епітелію	1311,00 ± 71,31	1329,00 ± 67,52
Діаметр фолікула, мкм		
— ефективний	58,70 ± 1,97	62,20 ± 2,11
— зовнішній	48,70 ± 1,85	51,90 ± 1,34
— внутрішній	28,70 ± 1,62	31,40 ± 1,36
Висота тироцитів, мкм	10,00 ± 0,48	10,30 ± 0,33
Кількість тироцитів у фолікулі	19,60 ± 0,36	19,40 ± 0,55
Фолікулярно-колоїдний індекс	1,75 ± 0,11	1,49 ± 0,06*
Індекс накопичення колоїду	1,44 ± 0,11	1,52 ± 0,08

П р и м і т к а. n — кількість тварин; \* — достовірні відмінності порівняно з групою Контроль (p < 0,05).

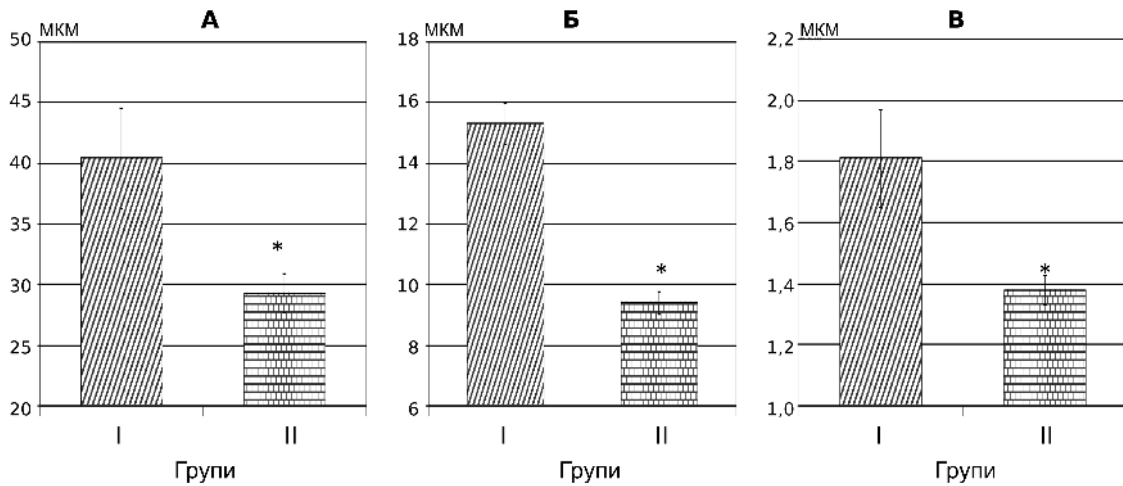


Рис. 2. Ширина прошарків міжчасткової (А), міжчасточкової (Б) та міжфолікулярної (В) сполучної тканини в щитоподібній залозі контрольних (I) та дослідних (II) щурів.

\* — достовірні відмінності порівняно з контролем ( $p < 0,05$ ).

цитами, які складають основну масу паренхіми ЩЗ. Форма тироцитів залежить від функціонального стану залози. При нормофункції тироцити мають кубічну форму, при гіпофункції вони стають плоскими, а при гіперфункції — набувають призматичної форми [16]. В наших дослідках показано, що тироцити ЩЗ контрольних груп переважно кубічної та призматичної форми. Висота тироцитів у них у середньому становить 10 мкм. У щурів, що зазнавали впливу ДНГ, відмічали наявність тироцитів переважно кубічної, рідше плоскої та призматичної форми. Висота тироцитів залишалася на рівні контрольних значень (див. табл.).

Зовнішній, внутрішній та ефективний діаметри фолікулів у ЩЗ тварин, після впливу ДНГ, мають тенденцію до зростання. В середньому один фолікул як контрольних, так і дослідних тварин має 19 тироцитів (див. табл.).

Фолікулярно-колоїдний індекс чи індекс активності ЩЗ — відношення площі фолікулярного епітелію до площі колоїду. Фолікулярно-колоїдний індекс у дослідних щурів вірогідно знизився на 15 % порівняно з контролем (див. табл.). Як правило, функціональна активність ЩЗ прямопропорційна до відносної площі фолікулярного епітелію і обернено пропорційна до вмісту колоїду.

Фолікулярно-колоїдний індекс зменшується при зниженні активності ЩЗ та зростає при активації органу.

Індекс накопичення колоїду — відношення середнього внутрішнього діаметру фолікула до подвійної висоти тиреоїдного епітелію. За нашими даними індекс накопичення колоїду у ЩЗ щурів, які зазнавали впливу ДНГ, мав тенденцію до зростання на 6 % (див. табл.). Це може свідчити про зниження синтетичної активності залози.

Зовні ЩЗ оточена капсулою із щільної волокнистої сполучної тканини, від якої відходять в середину сполучнотканинних трабекули, що несуть кровonosні і лімфатичні судини, нерви. Ці трабекули розділяють паренхіму залози на часточки. В ЩЗ розрізняють міжчасткову, міжчасточкову, міжфолікулярну і паравазальну сполучну тканину [11].

У щурів, які зазнавали впливу ДНГ, відмічено вірогідне зменшення ширини прошарків міжчасткової, міжчасточкової та міжфолікулярної сполучної тканини в ЩЗ на 27, 39 і 24 % відповідно, порівняно з контролем. (рис. 2). Це може свідчити про зниження кількості сполучнотканинних елементів в залозі дослідних щурів, які дихали гіпоксичною газовою сумішшю.

У сироватці крові тиреоїдні гормони перебувають як у вільному, так і в зв'язаному

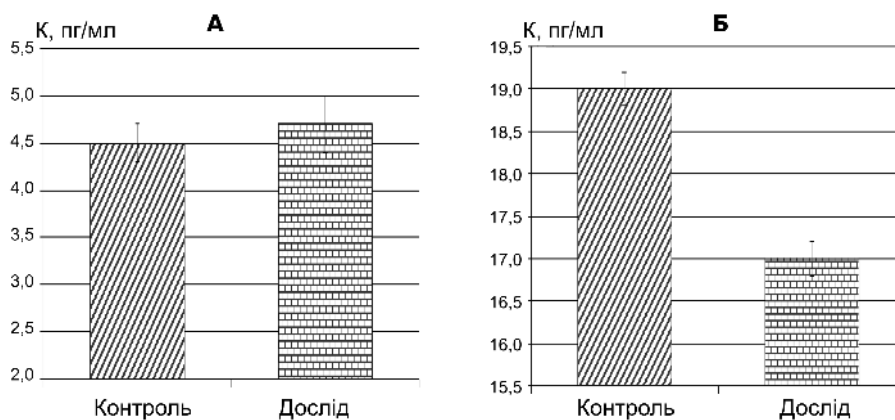


Рис. 3. Концентрація вільного трийодтироніну (А) та тироксину (Б) в сироватці крові контрольних та дослідних щурів.

стані. Гормональну активність мають тільки вільні  $T_3$  і  $T_4$ . Після впливу ДНГ виявлено тенденцію до зниження концентрації  $T_4$  на 9%. Концентрація  $T_3$  у сироватці крові дослідних тварин залишалася на рівні контрольних показників (рис. 3).

Більшість дослідників вивчають вплив гіпобаричної гіпоксії на функціональний стан ЩЗ [2, 5, 6]. Виявлено, що в умовах середньогір'я зростає активність ЩЗ, тоді як на великих висотах над рівнем моря та при більшому ступені кисневої депривації її секреторна функція пригнічується. Показано, що в процесі адаптації до умов високогір'я (3200 м) розвивалися фазні зміни функціональної активності ЩЗ: перша — ранній етап високогірної адаптації (1–7 днів) супроводжувався підвищенням гормональної активності, а в наступну (30–60 днів) — відбувалась нормалізація і гальмування активності ЩЗ. Так, на 3-тю добу адаптації організму до високогір'я в ЩЗ значно підвищувалась функціональна активність: збільшувалась ємність судинного русла (в 2,5 рази), частка фолікулярного епітелію, висота тироцитів. У колоїді розміщувалася велика кількість резорбційних вакуолей, зростав індекс резорбції. Функціонально-активні тироцити на апікальній поверхні містили численні мікроросинки, а в цитоплазмі локалізувалися секреторні гранули, мікрорезикули, великі вакуолі та колоїдні краплі, які вказують на активний процес резорбції колоїду. До кінця місячного терміну адаптації в ЩЗ, на тлі

нормалізації ангіоархітектоніки, чітко виявляли ознаки, які характерні для гіпофункціонального стану. Переважали великі фолікули з щільним колоїдом, поодинокими резорбційними вакуолями. Одночасно відзначали зменшення висоти фолікулярного епітелію, який набував кубічної, а іноді пласкої форми. У тироцитах зменшувалася кількість мікроросинок на апікальній поверхні, в області комплексу Гольджі практично були відсутні секреторні гранули. У ЩЗ до кінця 2-х місячної адаптації до високогір'я стан фолікулів свідчив про зниження функціональної активності залози: зростали розміри фолікулів, знижувався індекс резорбції. Тироцити мали пласку форму, зменшувалася кількість мікроросинок, колоїдних крапель, мітохондрій і рибосом [5, 7]. Іншими дослідниками показано, що при підйомі тварин, без попередньої преадаптації до нестачі кисню, на висоту 5200–7000 м над рівнем моря відбувалось різке пригнічення функції ЩЗ, яке проявлялося в різкому зниженні рівня тиреоїдних гормонів у крові [2, 17]. Інші дослідники відзначали позитивний ефект гіпоксичних газових сумішей на функціональний стан залози. Так, M. Yaluan et al. [3] виявили, що вплив ДНГ посилює синтез гіпоксіндукованого фактору в ЩЗ, який стимулює синтез тиреоїдних гормонів. У дослідженнях Yang et al. [18] показано підвищення експресії маркерів транскрипції тиреоїдних факторів та зростання диференціації ЩЗ за умов гіпоксії.

## ВИСНОВКИ

1. Отже, за більшістю отриманих показників у спонтанно-гіпертензивних щурів, після 28-добового впливу дозованої нормобаричної гіпоксії в переривчастому режимі (15 хв деоксигенація / 15 хв реоксигенація протягом 2 годин) в осінній період, виявлено ознаки зниження активності щитоподібної залози. Про це свідчить зростання площі фолікулів, колоїду, внутрішнього діаметру фолікулів, індексу накопичення колоїду, зниження фолікулярно-колоїдного індексу та концентрації тироксину в сироватці крові.
2. Ширина прошарків міжчасткової, міжчасточкової та міжфолікулярної сполучної тканини в щитоподібній залозі дослідних тварин, які зазнавали впливу дозованої нормобаричної гіпоксії, зменшується.
3. Отримані результати можуть мати значення для застосування дозованої нормобаричної гіпоксії при гіпертиреозі у осіб, що страждають на артеріальну гіпертензію та гіпертонічну хворобу.

ЛІТЕРАТУРА  
(REFERENCES)

1. Berezovskii VA. Prirodnaya i instrumentalnaya oteroterapiya, *Donetsk*, 2012: 304 p.
2. Sawhney RC, Malhotra AS. *International Journal of Biometeorology* 2010; 34(3):161-163.[doi.org/10.1007/BF01048714](https://doi.org/10.1007/BF01048714)
3. Yaluan M, Freitag P, Zhou J. *Regul Physiol* 2004; 287(3):600-607.
4. Yipeng Y, Yunshu L, Tong C, et al. *Int J Dev Biol* 2016; 60(4-6):85-93.
5. Vasilyeva EV, Tararak TY, Vasilyeva NA, et al. *Vestnik TvGU. Seriya: Biologiya i ekologiya* 2008; 8:8-13.
6. Khmel'nitskii OK, Khmel'nitskaia NM, Tararak Tla, et al. *Arkhiv Patologii* 2006; 68(6):31-33.
7. Kalyuzhnaya LI. Adenogipofiz, schitovidnaya zheleza i nadpochechniki v mehanizmah adaptatsii organizma k usloviyam gipoksii vyisokogorya. Avtoreferat, *Sankt-Peterburg*, 1997: 25 p.
8. Sabanova RK. *Uspehi sovremennogo estestvoznaniya* 2006; 3:43-44.
9. Tararak TJ, Vasileva VV, Balykin MV. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine* 2010; 145(5):647-649.[doi.org/10.1007/s10517-008-0163-x](https://doi.org/10.1007/s10517-008-0163-x)
10. Yanko RV. *International J of Physiology and Pathophysiology* 2014; 5(4):283-290.[doi.org/10.1615/IntJPhysPathophys.v5.i4.10](https://doi.org/10.1615/IntJPhysPathophys.v5.i4.10)
11. Yanko RV. *Endocrinologia* 2016; 21(1):33-37.
12. Korzhevsky D, Gilarov A. snovy gistologicheskoy tehniki, *Sankt-Peterburg*, 2010: 95 p.
13. Nikonenko AG. Vvedenie v kolichestvennyy gistologiyu, *Kiev*, 2010: 256 p.
14. Zabrodin VA. Morfologiya schitovidnoy zhelezy i metody ee izucheniya: metodicheskie rekomendatsii, *Smolensk*, 2005: 37 p.
15. Nikishin DV. Morfologiya i metody issledovaniya schitovidnoy zhelezy: metodicheskie rekomendatsii, *Penza*, 2008: 64 p.
16. Monazani F, Lawler JM, Powers SK. *Can. J. Appl. Physiol.* 1998; 23(1):23-55.
17. Aleksandrova NV. *Vestnik Novgorodskogo gosudarstvennogo universiteta* 2005; 32:88-91.
18. Yang YJ, Na HJ, Suh MJ, et al. *Yonsei Med J* 2015; 56(6):1503-1514.[doi.org/10.3349/ymj.2015.56.6.1503](https://doi.org/10.3349/ymj.2015.56.6.1503)

## РЕАКЦІЯ ЩИТОПОДІБНОЇ ЗАЛОЗИ СПОНТАННО-ГІПЕРТЕНЗИВНИХ ЩУРІВ НА ДІЮ ДОЗОВАНОЇ НОРМОБАРИЧНОЇ ГІПОКСІЇ В ОСІННІЙ ПЕРІОД

Янко Р. В., Березовський В. Я., Літовка І. Г., Жернокльов У. О.

*Інститут фізіології ім. О. О. Богомольця НАН України, м. Київ  
biolag@ukr.net*

Досліджували вплив дозованої нормобаричної гіпоксії (12% кисню в азоті) у переривчастому режимі (15 хв деоксигенація / 15 хв реоксигенація протягом 2 год) на функціональний стан щитоподібної залози молодих спонтанно-гіпертензивних щурів (лінія SHR) в осінній період. За більшістю отриманих показників виявлено, що після 28-добового впливу дозованої нормобаричної гіпоксії активність щитоподібної залози щурів лінії SHR знижується. Про це свідчить зростання площі фолікулів, колоїду, внутрішнього діаметру фолікулів, індексу накопичення колоїду, зниження фолікулярно-колоїдного індексу та концентрації тироксину в сироватці крові. Ширина прошарків міжчасткової, міжчасточкової та міжфолікулярної сполучної тканини в залозі дослідних тварин зменшується.

**К л ю ч о в і с л о в а:** щитоподібна залоза, нормобарична гіпоксична газова суміш, спонтанно-гіпертензивні щури, сполучна тканина.

## РЕАКЦИЯ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ СПОНТАННО-ГИПЕРТЕНЗИВНЫХ КРЫС НА ДЕЙСТВИЕ ДОЗИРОВАННОЙ НОРМОБАРИЧЕСКОЙ ГИПОКСИИ В ОСЕННИЙ ПЕРИОД

Янко Р. В., Березовский В. А., Литовка И. Г., Жернокльов У. А.

*Інститут фізіології ім. А. А. Богомольця НАН України, г. Київ  
biolag@ukr.net*

Исследовали влияние дозированной нормобарической гипоксии (12% кислорода в азоте) в прерывистом режиме (15 мин деоксигенация / 15 мин реоксигенация в течение 2 ч) на функциональное состояние щитовидной железы молодых спонтанно-гипертензивных крыс (линия SHR) в осенний период. В большинстве полученных показателей выявлено, что после 28-суточного воздействия дозированной нормобарической гипоксии активность щитовидной железы крыс линии SHR снижается. Об этом свидетельствует увеличение площади фолликулов, коллоида, внутреннего диаметра фолликулов, индекса накопления коллоида, снижение фолликулярно-коллоидного индекса и концентрации тироксина в сыворотке крови. Ширина прослоек междолевой, междольковой и межфолликулярной соединительной ткани в железе подопытных животных уменьшается.

**К л ю ч е в ы е с л о в а:** щитовидная железа, нормобарическая гипоксическая газовая смесь, спонтанно-гипертензивные крысы, соединительная ткань.

## THYROID GLAND REACTION ON THE ACTION OF DOSED NORMOBARIC HYPOXIA IN SPONTANEOUSLY-HYPERTENSIVE RATS IN AUTUMN

R. V. Yanko, V. Y. Berezovsky, I. G. Litovka, U. O. Zhernoklov

*Bogomolets Institute of Physiology of the NAS of Ukraine, Kyiv  
biolag@ukr.net*

It was investigated the effect of dosed normobaric hypoxia (12% oxygen in nitrogen) in intermittent mode (15 min deoxygenation / 15 min reoxygenation during 2 hours) on thyroid function of young spontaneously hypertensive rats (line SHR) in autumn. It was registered that after 28-day exposure to dosed normobaric hypoxia, thyroid gland activity in SHR rats reduced. This is evidenced by the growth of follicles' area, colloid, internal follicles' diameter, colloid accumulation index, decrease of follicular colloid-index and thyroxine concentrations in serum. The width of interlobar, interlobular and interfollicular connective tissue in the gland of experimental animals reduced.

**K e y w o r d s:** thyroid gland, normobaric hypoxic gas mixture, spontaneously-hypertensive rats, connective tissue.