

МІКРОСКОПІЧНІ ЗМІНИ В ЩИТОПОДІБНІЙ ЗАЛОЗІ БІЛИХ ЩУРІВ ЗА ВІДНОВЛЕННЯ ЇЇ СТРУКТУРИ ШЛЯХОМ ВВЕДЕННЯ МЕЗЕНХІМАЛЬНИХ СТОВБУРОВИХ КЛІТИН ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ГІПОТИРЕОЗІ

*Р. Р. Бокотько¹, аспірант,
А. Й. Мазуркевич, д-р вет. наук, професор, членкор НААН,
Я. К. Сердюков, канд. вет. наук, доцент,
В. Б. Данілов, канд. вет. наук, доцент,
М. О. Малюк, д-р вет. наук, професор,
Ю. О. Харкевич, канд. вет. наук, доцент,
В. В. Ковпак, канд. вет. наук, доцент, докторант,
Л. В. Кладницька, канд. вет. наук, доцент, докторант*

Національний університет біоресурсів і природокористування України
вул. Полковника Потехіна, 16, м. Київ, 03041, Україна

Представлені результати вивчення мікроскопічних змін у щитоподібній залозі білих щурів за відновлення її структури шляхом введення мезенхімальних стовбурових клітин при експериментальному гіпотиреозі. Після впоювання замість води 1 % розчину перхлорату калію було модельовано гіпотиреоз у білих щурів, де було встановлено структурно відновлювальні властивості щитоподібної залози після трансплантації мезенхімальних стовбурових клітин, які сприяють відновленню структурно функціональної одиниці – фолікула.

Ключові слова: ЩИТОПОДІБНА ЗАЛОЗА, ГІПОТИРЕОЗ, ПЕРХЛОРАТ КАЛІЮ, МЕЗЕНХІМАЛЬНІ СТОВБУРОВІ КЛІТИНИ, ЩУРИ.

Захворювання щитоподібної залози у тварин відносяться до розряду найсерйозніших хвороб, тому що супроводжуються зміною гормонального фону всього організму і призводять до порушення життєво важливих процесів в інших органах, тобто провокують виникнення супутніх захворювань [1, 2].

Щитоподібна залоза є одним з найважливіших органів внутрішньої секреції. Вона виробляє два гормони (тироксин і трийодтиронін), які беруть участь у регуляції обміну речовин і виробляють енергію, необхідну для роботи всіх систем і органів нашого організму [3, 6]. На їх рівень впливає тиреотропний гормон гіпофіза. Коли рівень секреції тиреоїдних гормонів змінюється, розвиваються патологічні порушення, що міняють структурно функціональну одиницю [4, 9, 10]. При цьому страждають всі системи і органи, в тому числі і кісткова тканина. Занадто низька кількість гормонів щитовидної залози відбувається зазвичай при гіпотиреозі, а також буває пошкодження щитовидної залози в результаті аутоімунного захворювання, яке призводить теж до зниження тиреоїдної функції щитоподібної залози в тварин[5, 6, 8].

Всі дослідження експериментального моделювання гіпотиреоїдної недостатності (гіпотиреозу) шляхом введення 1 % розчину перхлорату калію (хлорнокислий калій) $KClO_4$, а також трансплантація мезенхімальних стовбурових клітин в щитоподібну залозу, виконувались згідно вимог Європейської конвенції про захист домашніх та лабораторних тварин, (конвенцію ратифіковано Законом N 578-VII (578-18) від 18.09.2013).

¹ Науковий керівник – доктор ветеринарних наук, професор, членкор НААН А. Й. Мазуркевич

Метою нашої роботи було дослідити характер змін тканини щитоподібної залози за експериментального змодельованої тиреоїдної недостатності у білих щурів після трансплантації мезенхімальних стовбурових клітин.

Матеріали і методи. Експериментальні дослідження проведені в умовах проблемної науково-дослідної лабораторії фізіології та експериментальної патології тварин НУБіП України. У досліді використано 50 статевозрілих безпородних лабораторних щурів, масою тіла 145 ± 3 г. З них були сформовані групи, де після трансплантації мезенхімальних стовбурових клітин на 20, 40, 60 та 90 добу було проводили гістологічні, гормональні, біохімічні та інші дослідження, що дають змогу формувати певні аналітичні аналізи даного експериментального методу, де мезенхімальні стовбурові клітини сприяють відновленню структурно функціональної одиниці – фолікула.

Клінічний прояв тиреоїдної недостатності оцінювали також за зовнішніми ознаками, їх апетитом, масою тіла, станом шкіри та шерстного покриву. Загальна тривалість досліду становила 90 діб. При дослідженні макроскопічного стану щитоподібної залози при модельованому експериментальному гіпотиреозі враховували її зміни, розміри та вагу щитоподібної залози.

Результати й обговорення. Результати досліджень мікроскопічного стану щитоподібної залози свідчить про те, що змодельований експериментально гіпотиреоз у щурів супроводжується вираженими клінічними ознаками. Після застосування мезенхімальних стовбурових клітин на 20, 40, 60 та 90 добу, шерсть поступово щурів почала проростати на голих частинах кореня хвоста. Вага тіла помірно прирівнювалась до контрольної групи, покращувалась еластичність шкіри. Щитоподібна залоза зменшувалась, порівняно з тваринами, яким не транспортували мезенхімальні стовбурові клітини, а вага частково збільшилась на 8 %, порівняно з контрольною групою. Дані результатів аналізу гормонального та мікроскопічного підтверджують результати описані вище.

На рисунку 1 спостерігали зруйновані фолікули, зменшення фолікулів. Колоїд в них повністю відсутній. Тиреоцити були відшаровані від базальної мембрани, виявлялися в просвіті фолікулах, частково зруйновані. Весь просвіт фолікулів заповнений десквамованими тиреоцитами або їх фрагментами, що утворюються внаслідок їх руйнування. Подекуди також спостерігали ділянки некрозу, які захоплювали, як фолікули, так і сполучнотканинну строму. В прошарку стромы зафіксовані потовщення, колагенові волокна розпушені, дезорганізовані, погано профарбовані. Зважаючи на таку морфологічну картину можна говорити, що у щитоподібній залозі щурів, які тривалий час отримували перхлорат калію, мав місце дифузний гіперпластичний процес по мікрофолікулярно-солідному типу із ознаками венозного застою.

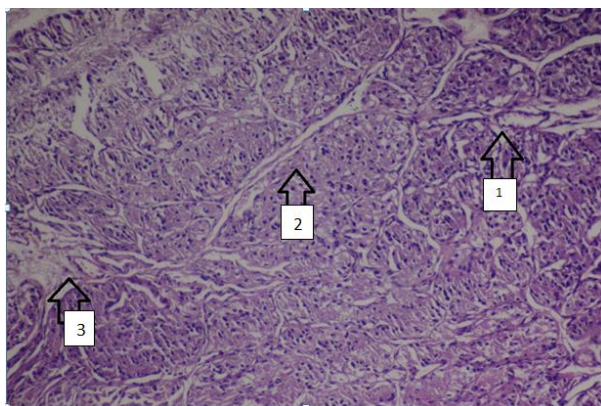


Рис.1. Мікроскопічна будова щитоподібної залози білих щурів на 65 добу до трансплантації мезенхімальних стовбурових клітин за моделювання експериментального гіпотиреозу: 1- проліферуючі клітини волокнистої сполучної тканини; 2 – волокна, які забарвлені базофільно; 3- виражений набряк. Фарбування гематоксиліном Караці і еозином, x200

Фолікулів, які мають нормальну будову на препараті не виявлено. Ділянки, які мали б відповідати фолікулам, являли собою округлі або овальні утворення різного розміру, які містять окремі дрібні порожнини, та велику кількість проліферуючих клітин волокнистої сполучної тканини та окремі епітеліоцити. Ці утворення оточені прошарками волокон сполучної тканини, які аналогічні таким в стромі залози. Волокна стромі забарвлені базифільно (в нормі мають бути еозинофільними). У сполучнотканинній стромі спостерігали виражений набряк: колагенові волокна розрушені, розволоknені, місцями погано профарбовані, а між волокнами виявляли досить великі проміжки.

На рисунку 2, на 20 добу, виявлено на препараті окремі фолікули, які мають типову будову. Їх невелика кількість, форма їх витягнута, овальна, вміст – рожевова рідина – колоїд. Діаметр фолікулів невеликий. В інших ділянках виявляли тканину, яка нагадує препарат контрольного стану 65 доби, тобто на день уведення мезенхімальних стовбурових клітин. Волокна стромі були забарвлені еозинофільно (тобто, ті, які являються нормальними). Спостерігали набряк стромі.

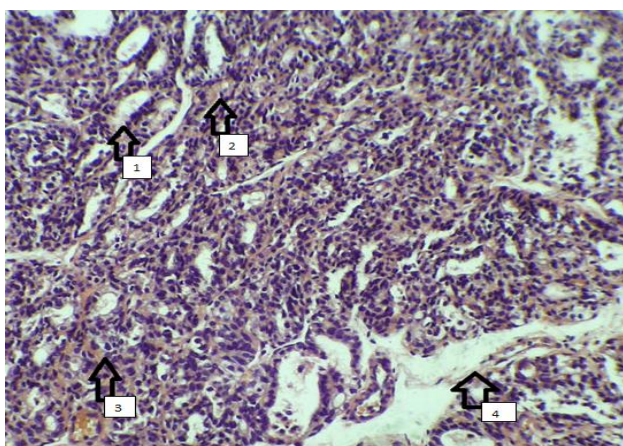


Рис. 2. Мікроскопічна будова щитоподібної залози білих щурів на 20 добу після трансплантації мезенхімальних стовбурових клітин за моделювання експериментального гіпотиреозу: 1- окремі фолікули, які мають типову будову; 2- колоїд; 3- волокна стромі, які забарвлені еозинофільно; 4- частковий набряк сполучної тканини. Фарбування гематоксилином Караці і еозином, x200

На рисунку 3 представлена мікроскопічна будова щитоподібної залози, де на 40 добу фолікулів уже велика кількість, вони більші за діаметром порівняно з тваринами контрольної групи. Вміст фолікулів не відрізняється порівняно з 20 добою дослідних тварин. Строма відповідає такій у нормі.

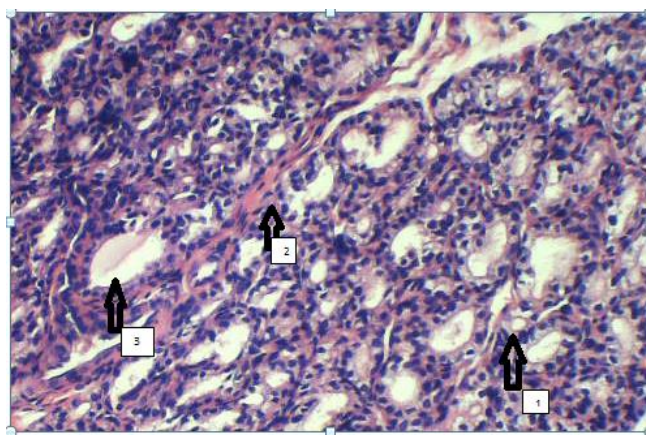


Рис. 3. Мікроскопічна будова щитоподібної залози білих щурів на 40 добу після трансплантації мезенхімальних стовбурових клітин за моделювання експериментального гіпотиреозу: 1- велика кількість фолікулів; 2- строма, яка відповідає такій у нормі; 3- колоїд. Фарбування гематоксилином Караці і еозином, x200

На рисунку 4 ми бачимо, що всі фолікули мали будову ідентичній нормальній. Форми їх округла, овальна або неправильна. Розміри фолікулів різні – великі, середні і дрібні. Спостерігаємо слабо виражений набряк строми.

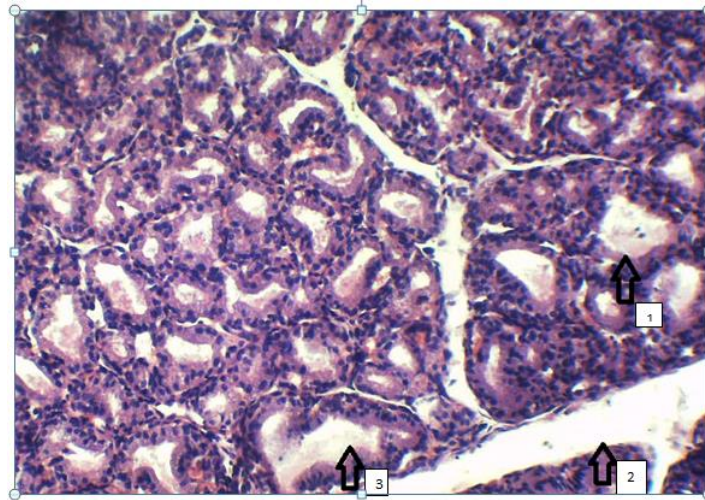


Рис. 4. Мікроскопічна будова щитоподібної залози білих щурів на 60 добу після трансплантації мезенхімальних стовбурових клітин за моделювання експериментального гіпотиреозу: 1-фолікули, які майже ідентичні нормальним; 2- слабо виражений набряк; 3- ділення фолікулів. Фарбування гематоксиліном Караці і еозином, x200

Також відмічено утворення нових фолікулів, шляхом ділення великих, які у свою чергу сприяють утворенню нових. Таким чином ми бачимо відновлення структурно функціональної одиниці щитоподібної залози білих щурів за трансплантації мезенхімальних стовбурових клітин при експериментальному гіпотиреозі, які дають можливість відновлювати структуру і функцію щитоподібної залози після експериментального пошкодження, шляхом застосування 1% розчину перхлорату калію (хлорнокислий калій), а в подальшому відновлення її мезенхімальними стовбуровими клітинами.

На рисунку 5 ми бачимо, що фолікули вже сформовані різного розміру та форми, і були заповнені великою кількістю рожево-оранжевого вмісту, як паренхіма так і строма. Щитоподібна залоза тварин даної групи повністю відповідає нормальній будові, яка близька до нормальної будови щитоподібної залози контрольної групи.

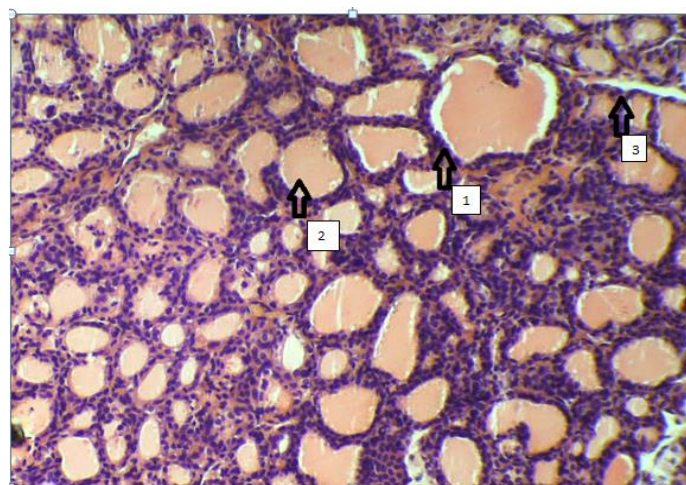


Рис. 5. Мікроскопічна будова щитоподібної залози білих щурів на 90 добу після трансплантації мезенхімальних стовбурових клітин за моделювання експериментального гіпотиреозу: 1- фолікули різного розміру та форми; 2- фолікули заповнені великою кількістю рожево-оранжевого вмісту; 3- паренхіма і строма близька до нормальної. Фарбування гематоксиліном Караці і еозином, x200

ВИСНОВКИ

Застосування мезенхімальних стовбурових клітин шляхом трансплантації у щитоподібну залозу лабораторним білим щурам, дали найкращий ефект, порівняно із введенням внутрішньовенно, внутрішньосерцево та традиційним методом лікування.

Перспективи досліджень. Наведені дані і методики відновлення щитоподібної залози при експериментальному гіпотиреозі в лабораторних білих щурів використовуватимуться в подальших дослідженнях для лікування зниженої функції щитоподібної залози у дрібних тварин.

MICROSCOPIC CHANGES IN THICK-DIMENSIONAL RATS OF WHEAT RURES AFTER THE RESTORATION OF ITS STRUCTURE BY INTRODUCING CEREBRAL STEM CELLS IN EXPERIMENTAL HYPOTHYTHRESIS

R. R. Bokotko, A. Y. Mazurkevich, Y. K. Serdyukov, V. B. Danilov, M. O. Malyuk, Yu. O. Kharkevich, V. V. Kovpak, L.V. Cladnitska

National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine
16, Polkovnika Potekhina str., Kyiv, 03041, Ukraine

S U M M A R Y

The results of the study of microscopic changes in the thyroid gland of white rats for the restoration of its structure by introducing mesenchymal stem cells in experimental hypothyroidism are presented. After pouring 1 % solution of kalium perchlorate into the water, hypothyroidism in white rats was modeled, where structurally restorative properties of the thyroid gland were established after the transplantation of mesenchymal stem cells, which contribute to the restoration of the structural functional unit - the follicle.

Keywords: THYROID GLAND, HYPOTHYROIDISM, POTASSIUM PERCHLORATE, MESENCHYMAL STEM CELLS, RATS.

МИКРОСКОПИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЕ БЕЛЫХ КРЫС ПРИ ВОССТАНОВЛЕНИЕ ЕЕ СТРУКТУРЫ ПУТЕМ ВВЕДЕНИЯ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ГИПОТИРЕОЗЕ

Р. Р. Бокотько, А. Й. Мазуркевич, Я. К. Сердюков, В. Б. Данилов, М. О. Малюк Ю. О. Харкевич, В. В. Ковпак, Л. В. Кладницкая

Национальный университет биоресурсов и природопользования Украины
ул. Полковника Потехина, 16, г. Киев, 03041, Украина

А Н Н О Т А Ц И Я

Представлены результаты изучения микроскопических изменений в щитовидной железе белых крыс при восстановлении ее структуры путем введения мезенхимальных стволовых клеток при экспериментальном гипотиреозе. После выпойки вместо воды 1 % раствора перхлората калия было моделируемых гипотиреоз у белых крыс, где было установлено структурно восстановительные свойства щитовидной железы после

трансплантации мезенхимальных стволовых клеток, которые способствуют восстановлению структурно функциональной единицы - фолликула.

Ключевые слова: ЩИТОВИДНАЯ ЖЕЛЕЗА, ГИПОТИРЕОЗ, ПЕРХЛОРАТ КАЛИЯ, МЕЗЕНХИМАЛЬНЫЕ СТВОЛОВЫЕ КЛЕТКИ, КРЫСЫ.

Л І Т Е Р А Т У Р А

1. *Friedman S. L.* Thyroid gland in animals / S. L. Friedman // *Tyreoyidol.* – 2015. – Vol. 38. – P. 48–63.
2. *Friedman S. L.* Experimental Hypothyroidism Rats / S. L. Friedman // *Nat. clin. Pract. thyroidology. Hepatol.* – 2013. – Vol. 4. – P. 246–257.
3. *Benyon R. C.* Is liver fibrosis reversible? / R. C. Benyon, J. Iredale // *Gut.* – 2000. – Vol. 46. – P. 453–466.
4. *Мельничук Д. О.* Використання ліпосом на основі фосфоліпідів при гіпотиреозі / Д. О. Мельничук, В. А. Грищенко, В. А. Томчук та ін.; За ред. Д. О. Мельничука. – К.: НУБіПУ, 2010. – 400 с.
5. *Гуськова Т. А.* Доклинические токсикологические исследования лекарственных средств как основа их безопасного применения в клинике / Т. А. Гуськова // *Клинические исследования лекарственных средств в России.* – 2013. – № 3, 4. – С. 10–25.
6. *Kuo T. K.* Stem cell therapy for thyroid disease: parameters governing the success for using bone marrow mesenchymal stem cells / T. K. Kuo, S. Hung // *Gastroenterology.* – 2012. – Vol. 134. – P. 2111–2121.
7. *Yagi K.* Application of mesenchymal stem cells to thyroid regenerative medicine / K. Yagi, M. Kojima, S. Oyagi et al. // *Yakugaku Zasshi.* – 2016. – Vol. 128. – P. 4–9.
8. *Алексеева И. Н.* Гипотиреоз у животных / И. Н. Алексеева. – К.: Наук. думка, 2010. – 184 с.
9. *Dong-Chang Zhao.* Bone marrow-derived mesenchymal stem cells protect against experimental thyroid fibrosis in rats / Dong-Chang Zhao, Jun-Xia Lei et al. // *World J. Gastroenterol.* – 2015. – Vol. 11. – P. 77–98.
10. *Грищенко В. А.* Біохімічні показники сироватки крові при медикаментозному гіпотиреозі щурів та їх зміни за різних способів корекції / В. А. Грищенко, О. М. Литвиненко // *Наук. вісник Львівського національного ун-ту вет. мед. та біотехнологій ім. С. З. Гжицького.* – 2013. – Т. 12, № 8 (34). – С. 44–67.

Рецензент – З. С. Клестова, д. вет. н., професор, Державний науково-контрольний інститут біотехнології і штамів мікроорганізмів.