

© Л.В. Николишин, М.М. Багрій, О.Г. Попадинець, Н.М. Воронич-Семченко, 2014

УДК 616-021.2.+611.814+612.432+612,44+616-092.9+577.118

Л.В. НИКОЛИШИН, М.М. БАГРІЙ, О.Г. ПОПАДИНЕЦЬ, Н.М. ВОРОНИЧ-СЕМЧЕНКО  
*Івано-Франківський національний медичний університет, кафедра фізіології, Івано-Франківськ*

### СТРУКТУРНО-ФУНКЦІОНАЛЬНІ ОСОБЛИВОСТІ ГІПОТАЛАМО-ГІПОФІЗАРНО-ТИРЕОЇДНОЇ СИСТЕМИ У ТВАРИН ІЗ ДЕФІЦИТОМ ЙОДУ ТА СЕЛЕНУ

У статті проаналізовано тиреоїдний статус та структурні особливості гіпоталамуса, гіпофіза і щитоподібної залози у щурів із йодною депривацією та на тлі комбінованого дефіциту йоду й селену. Виявлено, що у структурах гіпоталамо-гіпофізарної системи дослідних тварин виникають поліморфні дистрофічні порушення: вакуолізація нейрокитів і зміна їх форми, порушення тинкторіальних властивостей тигроїду, перичелюлярний та периваскулярний набряк, вакуолізація аденоцитів. Виявлені морфологічні зміни узгоджуються із структурними змінами тироцитів та ступенем порушення тиреоїдного статусу (розвитком гіпотиреоїдної дисфункції) і можуть характеризувати розлади центральних механізмів регуляції функціональної здатності щитоподібної залози. Доказано негативний вплив дефіциту селену на тиреоїдний статус.

**Ключові слова:** гіпоталамо-гіпофізарна система, щитоподібна залоза, гіпотиреоїдна дисфункція, дефіцит селену

**Вступ.** Захворювання щитоподібної залози, у тому числі гіпотиреоїдна дисфункція (ГД), займають одне із чільних місць серед ендокринної патології не тільки в Україні, але й у світі загалом. ГД є наслідком стійкого тривалого зменшення гормонів щитоподібної залози в організмі або зниження їх біологічного ефекту на тканинному рівні. Особливу роль у розвитку зобу відіграють йод та інші есенціальні мікроелементи (залізо, селен, цинк) [3, 6, 7]. Відомо, що у щурів із дефіцитом селену зменшується вміст тироксину та трийодтироніну в плазмі крові, а маса щитоподібних залоз збільшується [5]. Тому представляє науковий інтерес поглиблене вивчення структурно-функціональних особливостей гіпоталамо-гіпофізарно-тиреоїдної осі за умов мікроелементного дисбалансу. Для регіонів йодної депривації актуальним є дослідження комбінованого дефіциту мікроелементів.

**Мета дослідження.** Вивчити в експерименті структурно-функціональні особливості гіпоталамо-гіпофізарно-тиреоїдної осі за умов йодної депривації та комбінованого дефіциту йоду й селену.

**Матеріали та методи.** Дослідження проводили на 90 нелінійних статевозрілих щурах-самцях масою 150-180 г. Тварини були розділені на три групи: I-а – інтактні тварини ( $I_k$  – контрольна група); II-а – щури із йодною депривацією ( $II_1$ ), III-я – щури із комбінованим дефіцитом йоду та селену ( $III_{I+Se}$ ). Тварин контрольної групи утримували в умовах стандартного харчового раціону, звичайного температурного та світлового режиму віварію. Для обмеження поступлення йоду щурів II-ої та III-ої груп впродовж дослідження утримували на йододефіцитній дієті [8]. Для запобігання поступлення йоду до питної води додавали також тиреостатичний препарат мерказоліл (7,5 мг/1000 г маси тіла) впродовж 45 днів [6]. Дефіцит селену відтворювали шляхом використання напівсинтетичного збалансованого раціону, що включав у себе натуральні інгредієнти [1].

Евтаназію здійснювали шляхом декапітації під кетаміновим знечуленням (100 мг/кг маси тіла). Утримання, вигодовування та евтаназія відповідали загальноприйнятим міжнародним та національним вимогам щодо гуманного відношення до тварин (Страсбург, 1986; Київ, 2001, 2006).

Функціональний стан щитоподібної залози у тварин усіх дослідних груп оцінювали за вмістом тиреоїдних гормонів у сироватці крові: вільних трийодтироніну –  $fT_3$ , тироксину –  $fT_4$  та тиреотропного гормону (ТТГ) аденогіпофіза.

Структуру гіпоталамо-гіпофізарно-тиреоїдної системи вивчали за допомогою світлооптичної мікроскопії. Гіпоталамус, гіпофіз та щитоподібну залозу фіксували у 10% розчині нейтрального формаліну (рН=7,0). Час фіксації складав 24 години. Для ідентифікації тигроїду шматочки гіпоталамуса фіксували у спирт-формолі впродовж 1-2 днів, для візуалізації аденоцитів гіпофіза останній фіксували у розчині Буена протягом 3 діб з наступним промиванням впродовж кількох днів у 70% етиловому спирті для видалення пікринової кислоти. Надалі шматочки усіх досліджуваних органів поміщали у висхідну батарею спиртів для дегідратації, далі у хлороформ, суміш хлороформ-парафін (1:1, температура 37°C), парафін (при температурі 57°C). Після парафінової препідготовки шматочки заливали у парафін. Виготовлення серійних парафінових зрізів товщиною 4-6 мкм проводилося на санному мікротомі. Забарвлення препаратів здійснювалося гематоксиліном і еозином, за Нісслем й азокарміном за Гейденгайном. Фотодокументування здійснювали за допомогою мікроскопа Ахіоскоп та цифрової камери Tucsen TCA-10.0-N за допомогою програмного забезпечення IS-capture (V. 1.0).

В усіх досліджених випадках проводився морфометричний аналіз за допомогою програмного забезпечення Image Tool 2,0 for Windows. Підрахунок морфометричних показників прово-

дився мінімум у 10 полях зору. При дослідженні щитоподібної залози враховувалися наступні морфометричні параметри: площа поперечного перерізу фолікула, середній зовнішній та внутрішній периметри фолікула, середній зовнішній та внутрішній діаметри фолікула, площа колоїду, висота тиреоїдного епітелію, площа тиреоцитів у фолікулі, площа ядра тиреоцита, денситометрична щільність колоїду, фолікулярно-колоїдний індекс (ФКІ, індекс активності щитоподібної залози), індекс накопичення колоїду (ІНК, показник Брауна). ФКІ обчислювали шляхом відношення площі фолікулярного епітелію до площі колоїду. ІНК знаходили за формулою  $ІНК = d/2h$ , де  $d$  – середній внутрішній діаметр фолікула, а  $h$  – середня висота тиреоцита. При дослідженні гіпоталамуса вивчали такі показники: площу профілю нейрона (ПН), периметр нейрона, площу профілю ядра (ПЯ), периметр ядра нейрона, ядерно-цитоплазматичний індекс (ПЯ/ПН). Морфометричні показники аденогіпофіза включали обчислення частки аденоцитів та судин, паренхіматозно-васкулярного індекса, який вираховували шляхом відношення частки паренхіми (аденоцитів) до частки кровеносних судин.

Статистичну обробку даних проводили з використанням пакету математичних програм Statistic Soft 7,0. Статистично вірогідною вважали різницю при  $p < 0,05$ .

**Результати досліджень та їх обговорення.** У результаті проведених експериментальних досліджень у дослідних тварин виявили суттєве зниження вмісту тиреоїдних гормонів у сироватці крові (табл. 1). Зокрема, у щурів II-ої групи вміст  $fT_3$  в сироватці крові зменшився на 64,81% ( $p < 0,05$ ),  $fT_4$  – на 36,44% ( $p < 0,05$ ) у порівнянні з контролем. Обмеження поступлення в організм щурів селену на тлі йодної депривації зумовило більше виражені зміни тиреоїдного статусу: вміст ТТГ збільшився у 2,35 разу ( $p < 0,05$ ),  $fT_3$  та  $fT_4$  – зменшились відповідно на 74,35% ( $p < 0,05$ ) та на 54,63% ( $p < 0,05$ ) щодо аналогічних даних у тварин контрольної групи (табл. 1). Треба зазначити, що тиреоїдний статус тварин III-ої групи відрізнявся від аналогічних даних у щурів II-ої групи, про що свідчить зниження вмісту  $fT_3$  у сироватці крові на 27,10% ( $p_{2-3} < 0,02$ ). Загалом такі зміни функціональної здатності щитоподібної залози характеризують розвиток у тварин обох дослідних груп ГД [4, 6].

Таблиця 1

Вміст тиреоїдних гормонів у сироватці крові щурів із йодною депривацією, комбінованим дефіцитом йоду й селену ( $M \pm m$ )

Дослідні групи	Трийодтиронін ( $fT_3$ ), пмоль/л	Тироксин ( $fT_4$ ), пмоль/л	Тиреотропний гормон (ТТГ), мМО/л
I-а ( $I_k$ , інтактні тварини, $n=30$ )	$8,81 \pm 0,71$	$32,69 \pm 8,65$	$0,14 \pm 0,02$
II-а група ( $II_I$ , $n=30$ )	$3,10 \pm 0,16^*$	$20,77 \pm 2,96^*$	$0,18 \pm 0,06$
III-я група ( $III_{I+Se}$ , $n=30$ )	$2,26 \pm 0,21^*$ $p_{II-III} < 0,02$	$14,83 \pm 1,48^*$	$0,33 \pm 0,05^*$

Примітка. Тут і в наступних таблицях \* вірогідна різниця ( $p < 0,05$ ) щодо аналогічних показників у інтактних тварин;  $p$  із арабськими цифрами – вірогідна різниця між показниками відповідних дослідних груп

Структура щитоподібної залози у тварин на тлі йодної депривації неоднорідна: спостерігаються невеликі колабовані фолікули зі сплосченим епітелієм, а також перерозтягнені секретом фолікули неправильної округлої й овальної форми. Епітелій окремих фолікулів набряклий, їх ядра завуальовані, нерідко помітна десквамація епітелію в просвіт. Стінка кровеносних судин, що знаходяться в прошарках пухкої сполучної тканини між фолікулами, потовщена, характерне повнокрів'я.

Морфометричні дані структурних компонентів щитоподібної залози також суттєво відрізнялись від аналогічних показників у щурів контрольної групи (табл. 2). Зокрема, виявили збільшення площі колоїду (у 2,09 разу,  $p < 0,05$ ), зниження висоти фолікулярного епітелію (на 46,32%,  $p < 0,05$ ) щодо контролю.

Аналогічна тенденція структурних змін виявлена і у щитоподібній залозі тварин із комбінованим дефіци-

том мікроелементів (рис. 1). Для тварин III-ої групи характерним був набряк у судинно-стромальному компоненті залози. Епітелій тиреоцитів плоский, цитоплазма просвітлена, ядра слабо базифільні, гомогенні, овальної й округлої форми. За даних умов площа колоїду зросла у 2,63 разу ( $p < 0,05$ ) на тлі зниження висоти фолікулярного епітелію (на 50,55%,  $p < 0,05$ ), зменшення площі фолікулярного епітелію (на 59,56%,  $p < 0,05$ ) та площі ядра тиреоцита (на 39,11%,  $p < 0,05$ ), а також зменшення щільності колоїду (на 15,81%,  $p < 0,05$ ) щодо даних у інтактних тварин (табл. 2). При порівняльному аналізі морфометричних показників компонентів залози у щурів II-ої та III-ої груп виявлено суттєві розбіжності: збільшення площі фолікула (на 33,48%,  $p_{II-III} < 0,05$ ) та внутрішнього діаметра фолікула (на 29,20%,  $p_{II-III} < 0,05$ ), а також зменшення площі фолікулярного епітелію (на 35,38%,  $p_{II-III} < 0,05$ ) у щурів із комбінованим дефіцитом мікроелементів.

Морфометричні та денситометричні параметри щитоподібної залози щурів із йодною депривацією, комбінованим дефіцитом йоду й селену ( $M \pm m$ )

Параметр	Дослідні групи		
	I-а ( $I_K$ , n=30)	II-а група ( $II_I$ , n=30)	III-я група ( $III_{I+Se}$ , n=30)
Площа фолікула, $\text{мкм}^2$	3069,69 $\pm$ 128,74	3371,65 $\pm$ 1381,03	4500,57 $\pm$ 134,9 $p_{II-III} < 0,05$
Зовнішній периметр фолікула, мкм	218,42 $\pm$ 16,98	225,40 $\pm$ 46,90	271,74 $\pm$ 42,37
Зовнішній діаметр фолікула, мкм	69,56 $\pm$ 4,96	71,78 $\pm$ 14,93	86,54 $\pm$ 13,49
Внутрішній периметр фолікула, мкм	171,20 $\pm$ 16,40	181,43 $\pm$ 28,86	234,43 $\pm$ 41,29
Внутрішній діаметр фолікула, мкм	54,52 $\pm$ 4,71	57,78 $\pm$ 7,19	74,65 $\pm$ 3,14 $p_{II-III} < 0,05$
Площа колоїду, $\text{мкм}^2$	920,35 $\pm$ 243,80	1926,65 $\pm$ 161,18*	2418,05 $\pm$ 198,41*
Висота фолікулярного епітелію, мкм	8,15 $\pm$ 1,05	5,19 $\pm$ 0,94*	4,03 $\pm$ 0,84*
Площа фолікулярного епітелію, $\text{мкм}^2$	1926,51 $\pm$ 394,83	1205,71 $\pm$ 73,99	779,11 $\pm$ 21,21* $p_{II-III} < 0,05$
Площа ядра тиреоцита, $\text{мкм}^2$	34,13 $\pm$ 5,98	23,22 $\pm$ 1,85	20,76 $\pm$ 2,13*
Щільність колоїду, ум.од.	187,25 $\pm$ 9,16	169,09 $\pm$ 4,17	161,4 $\pm$ 6,26*
Фолікулярно-колоїдний індекс (ФКІ)	2,093 $\pm$ 1,61	0,625 $\pm$ 0,45	0,322 $\pm$ 0,11
Індекс накопичення колоїду (ІНК)	3,44 $\pm$ 0,37	5,57 $\pm$ 1,87	9,26 $\pm$ 2,54

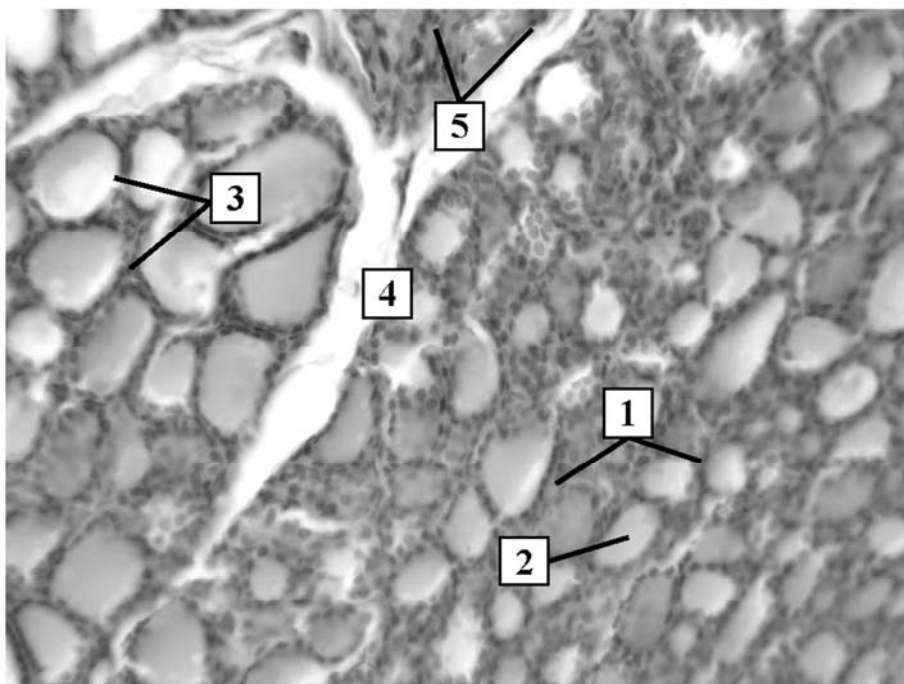


Рис. 1. Структурна організація щитоподібної залози щурів із комбінованим дефіцитом йоду й селену. 1 – різнокаліберні фолікули, 2 – сплющений епітелій, 3 – розрідження колоїду, 4 – інтерстиційний набряк, 5 – повнокрів'я судин. Забарвлення: гематоксилін і еозин. Зб.:  $\times 400$ .

За умов розвитку ГД у структурах проміжного мозку спостерігається периваскулярний набряк, у кровеносних судинах – явища сладжування. Значна кількість нейронів гіпоталамуса із вираженими морфологічними змінами. Набряклі як перикаріони, так і ядра, що підтверджують також і результати морфометричного дослідження (табл. 3). Так, збільшились: ПН (у

2,52 разу,  $p < 0,05$ ), периметр нейрона (на 58,79%,  $p < 0,05$ ), ПЯ (у 2,12 разу,  $p < 0,05$ ) та периметр ядра (45,51%,  $p < 0,05$ ) щодо аналогічних показників у щурів контрольної групи. Ядра деяких нейронів гіперхромні із нечітким контуром каріолеми. Помітні нейрони із гіперхромним конденсованим ядром. У багатьох клітинах виражений хроматоліз.

Таблиця 3

Морфометричні та денситометричні параметри гіпоталамуса щурів із гіпотиреоїдною дисфункцією на тлі йодної депривації, комбінованого дефіциту йоду й селену (M±m)

Параметри	Дослідні групи		
	I-а (I <sub>к</sub> , n=30 )	II-а група (II <sub>і</sub> , n=30)	III-я група (III <sub>і+Se</sub> , n=30)
Площа профілю нейрона (ПН), мкм <sup>2</sup>	152,59±8,93	384,54±21,51*	380,32±18,01*
Периметр нейрона, мкм	43,78±3,47	69,52±4,31*	69,14±11,12*
Площа профілю ядра (ПЯ), мкм <sup>2</sup>	82,95±4,21	175,52±6,95*	168,71±14,05*
Периметр ядра, мкм	32,28±2,96	46,97±1,89*	46,03±8,16*
Ядерно-цитоплазматичний індекс (ПЯ/ПН)	0,54±0,47	0,46±0,32	0,44±0,11

Аналогічна тенденція структурних змін проміжного мозку виявлена і у тварин із комбінованим дефіцитом мікроелементів. У той же час, кровоносні судини подекуди більш повнокровні, у них помітний застій крові. Спостерігається периваскулярний та перичелюлярний (більш виражений поблизу капілярів) набряк. Частина капілярів спазмовані. Подекуди помітні діapedезні мікрогеморагії біля судин. У дистрофічно змінених нейронах

спостерігається різної виразності хроматоліз, вакуолізація нейроплазми. Деякі клітини мають пікноформні ядра, виразно гіперхромні, ядра деяких нейронів гіпертрофовані і займають майже весь вміст перикаріона. У деяких нейроцитах виразно знижений вміст тигроїду. У незворотно пошкоджених нейронах перикаріон різко просвітлений, іноді лише блідо забарвлені залишки нейроплазми – клітини-тіні (рис. 2).

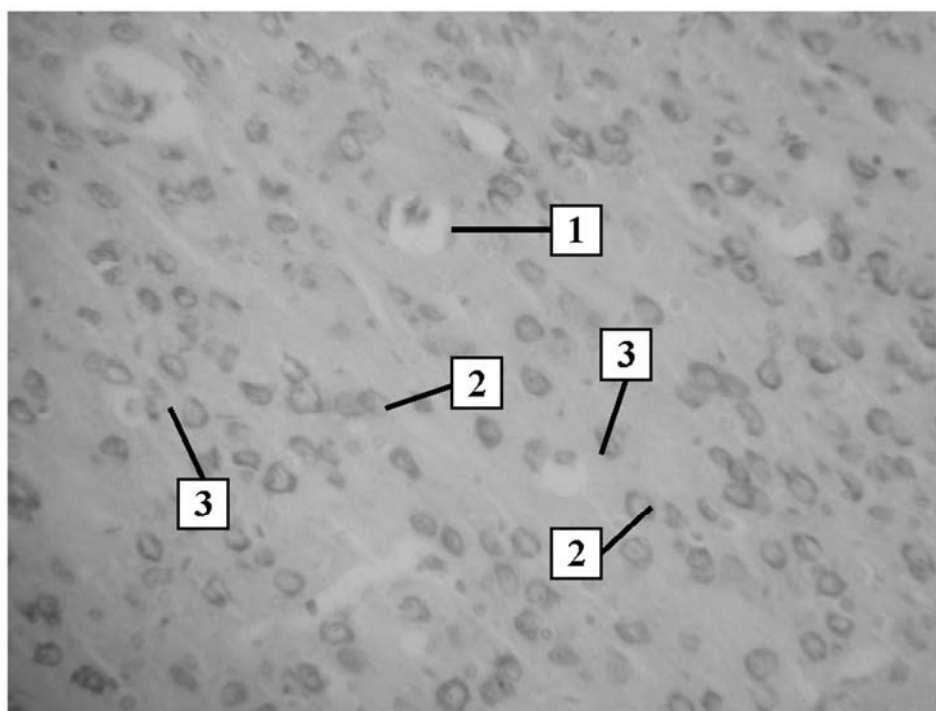


Рис. 2. Структурна організація гіпоталамуса щурів із комбінованим дефіцитом йоду й селену.  
1 – перичелюлярний набряк, 2 – хроматоліз, 3 – клітини-тіні.  
Забарвлення: за Нісслем. Зб.: x400.

При ГД на тлі мікроелементного дисбалансу помітна різко порушена трабекулярна будова гіпофіза за рахунок вакуолізації ендокринних клітин, що більше виражені у тварин III-ої дослідної групи (рис. 3). В їх вакуолізованій цитоплазмі нечітко прослідковується зернистість. Кровоносні судини нерівномірного кровонаповнення: просвіт більшості судин не візуалізується, окремі розширені та повнокро-

вні. За результатами морфометричного дослідження, судини займають 1,50-2,96% щодо 7,46% у групі контролю, аденоцити – 97,04-98,50% (92,54% у групі контролю), паренхіматозно-васкулярний індекс становить 32,83-65,84 (контроль – 12,41). Необхідно акцентувати на суттєвому зростанні паренхіматозно-васкулярного індекса, що характеризує переважання дистрофічних змін у аденоцитах.

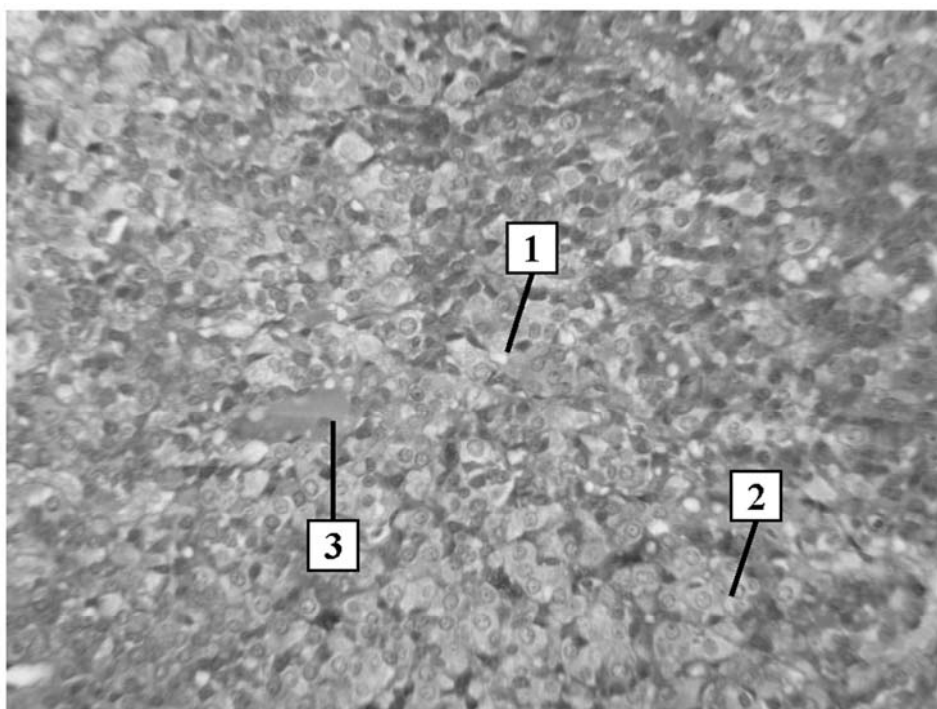


Рис. 3. Структурна організація аденогіпофіза щура із комбінованим дефіцитом йоду й селену. 1 – вакуолізація цитоплазми ендокриноцитів, 2 – порушена трабекулярність, 3 – розширені кровоносні судини. Забарвлення: азокармін за Гейденгайном. Зб.: x400.

**Висновки.** За умов мікроелементного дисбалансу (йодного монодефіциту чи комбінованого дефіциту йоду й селену) у тварин розвивається ГД. За таких умов у структурах гіпоталамо-гіпофізарної системи виникають поліморфні дистрофічні порушення: вакуолізація нейрокитів і зміна їх форми, порушення тинкторіальних властивостей тигроїду, перичелюлярний та периваскулярний набряк, вакуолізація аденоцитів. Виявлені

морфологічні зміни узгоджуються із структурними змінами тироцитів та ступенем порушення тиреоїдного статусу і можуть характеризувати розлади центральних механізмів регуляції функціональної здатності щитоподібної залози. Комбінований дефіцит мікроелементів (йоду та селену) супроводжується більш глибокими структурно-функціональними змінами гіпоталамо-гіпофізарно-тиреоїдної осі.

#### СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Барышева Е.С. Роль микроэлементов в функциональном и структурном гомеостазе щитовидной железы (клинико-экспериментальное исследование) / Е.С. Барышева // Міжнародний ендокринологічний журнал. — 2010. — №7. — С. 15—25.
2. Кузьменко Ю.Ю. Морфофункціональні зміни паренхіми нирки щурів при тривалому експериментальному гіпотиреозі / Ю.Ю. Кузьменко // Український морфологічний альманах. — 2011. — Т.9, №1. — С. 60—62.
3. Погорелова О.С. Особенности морфофункционального проявления микроэлементозов / О.С. Погорелова // Проблемы, достижения и перспективы развития медико-биологических наук и практического здравоохранения. — 2007. — Т.143. — Ч. IV. — С. 77—80.
4. Чарнош С.М. Порівняльна характеристика трьох експериментальних моделей гіпотиреозу / С.М. Чарнош // Вісник наукових досліджень. — 2007. — №2. — С. 113—115.
5. Drutel A. Selenium and the thyroid gland: more good news for clinicians / A. Drutel, F. Archambeaud, P. Caron // Clin endocrinol. — 2013. — Vol 78(2). — P. 155—164.
6. Duntas LH. Environmental factors and thyroid autoimmunity / LH. Duntas // Ann Endocrinol (Paris).— 2011. — Vol. 72(2). — P. 108—113.
7. Hammouda F. Reversal of cadmium-induced thyroid dysfunction by selenium, zinc, or their combination in rat / F.Hammouda, I. Messaoudi, J. El Hani, T. Baati, K. Saed, A. Kerkeni // Biol Trace Elem Res. — 2008. — Vol. 126(1—3). — P. 194—203.
8. Martinez-Galan J.R. Early effect of iodine deficiency on radial glial cells of the hippocampus of the rat fetus / J.R. Martinez-Galan, P.Pedraza, M. Santacana // J. Clin. Invest. — 1997. — Vol. 99. — P. 2701—2709.

L.V. NUKOLYSHYN , M.M. BAGRIY, O.G. POPADYNETS, N.M. VORONICH-SEMCHENKO

*Ivano-Frankivsk National Medical University, Department of Physiology, Ivano-Frankivsk*

STRUCTURAL AND FUNCTIONAL FEATURES OF HYPOTHALAMIC-PITUITARY-THYROID SYSTEM IN ANIMALS WITH IODINE AND SELENIUM DEFICIENCY

Thyroid status and structural features of hypothalamus, pituitary and thyroid gland in rats with iodine deprivation and on the background of combined iodine and selenium deficiency were analyzed in the article. It was observed that in the structures of hypothalamic-pituitary system of experimental animals polymorphic dystrophic disturbances appeared: vacuolation of neurocytes and the changes of their shape, the disturbance of tinctorial properties of thygroid, pericellular and perivascular edema, vacuolation of thyrocytes. Such morphological changes are conformed with the structural changes of thyrocytes and the degree of thyroid status disturbance (the development of hypothyroid dysfunction) and can characterize the disorders of central mechanisms of regulation of functional ability of thyroid gland. The negative influence of selenium deficiency on the thyroid status is proved.

**Key words:** hypothalamic-pituitary system, thyroid gland, hypothyroid dysfunction, selenium deficiency

**Стаття надійшла до редакції: 28.04.2014**