

С.О. Луцук
Х.І. Струс
А.М. Ященко

Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького

Надійшла:
12.05.2018
Прийнята:
10.06.2018

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2018.2.30-39>

УДК 612.451-018.1:(616.441-008.64+616.441-008.61):581.162.1-092.4/9

ЛЕКТИНОВА ГІСТОХІМІЯ ТА МОРФОМЕТРИЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА НАДНИРКОВИХ ЗАЛОЗ ПОТОМСТВА ЩУРІВ, ЩО РОЗВИВАЛОСЯ ЗА УМОВ ДИСБАЛАНСУ ТИРОЇДНИХ ГОРМОНІВ МАТЕРИНСЬКОГО ОРГАНІЗМУ

Дослідження проведено в рамках планової науково-дослідної теми «Лектино- та імуногістохімічний аналіз вуглеводних детермінант нормальних та патологічно змінених клітин і тканин» (номер державної реєстрації 0117U001076).

© Morphologia. – 2018. – Т. 12, № 2. – С. 30-39.

© С.О. Луцук, Х.І. Струс, А.М. Ященко, 2018

✉ s.o.lutsyk@gmail.com; yashchenko_am@ukr.net

Lutsyk S.A., Strus Ch.I., Yashchenko A.M. Lectin histochemistry and morphometric characteristics of adrenal glands of the rats progeny developing under maternal hypo- and hyperthyroidism.

ABSTRACT. Background. Thyroid gland displays strong impact on most organ systems of the body. The aim of present investigation was to study the influences of experimental hypo- and hyperthyroidism of maternal organism on the carbohydrate determinants and morphometric parameters of progeny adrenal glands. **Methods.** Maternal hypothyroidism was induced by supplementation of daily food allowance of experimental rats with 10 mg/kg of antithyroid drug mercazolil for two weeks before pregnancy, during whole gestational period and through 40 days of progeny's postnatal life. Hyperthyroidism was induced according to similar protocol by food supplementation with 100 µg/kg of L-thyroxin. Adrenal glands of prenatal day 20th fetuses, postnatal days 1st, 10th, 40th offsprings, and of adult rats with induced hypo- or hyperthyroidism were subjected to histochemistry investigation using PNA lectin with subsequent morphometric studies. **Results.** On the prenatal day 20th PNA intensely labeled microcirculatory bed. Under maternal hypothyroidism it was detected enhanced reactivity of adrenal parenchima, while hyperthyroidism induced opposite effect. These trends apparently encompass delayed adrenal maturation under hypothyroidism and its acceleration under hyperthyroidism. On postnatal day 1st and henceforth chromaffin cells exposed strong lectin reactivity, while adrenocorticocytes were completely non-reactive. Hypothyroidism was accompanied with vasodilatation and caused reduced lectin binding. On postnatal day 40th and in adult rats differences in lectin labeling of control and experimental group adrenals were less prominent; medullary epinephrocytes exposed strong PNA-reactive cytoplasmic granularity, while norepinephrocytes were only slightly positive. Morphometric studies revealed that both hypo- and hyperthyroidism were accompanied with significantly decreased size of adrenocorticocytes with simultaneous enhancement of nuclear-cytoplasmic index, prominent rearrangement of adrenal cortical zonation. In particular, hyperthyroidism induced as much as 50% of zona fasciculata and almost 100% of zona reticularis thickening in comparison with control group rats. **Conclusion.** Our investigation revealed significant influences of maternal hypo- and hyperthyroidism on morphogenesis, micromorphological and metabolic characteristics of progeny adrenal glands; hyperthyroidism caused more pronounced alterations compared to hypothyroidism. PNA can be recommended as a selective histochemical marker of rat adrenal medulla beginning from postnatal day 10 and henceforth.

Key words: lectin histochemistry, morphometric characteristics, rat adrenal gland, morphogenesis, maternal hypo- and hyperthyroidism.

Citation:

Lutsyk SA, Strus ChI, Yashchenko AM. [Lectin histochemistry and morphometric characteristics of adrenal glands of the rats progeny developing under maternal hypo- and hyperthyroidism]. Morphologia. 2018;12(2):30-9. Ukrainian. DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2018.2.30-39>.

Вступ

Щитоподібна залоза, впливаючи за посередництва тироїдних гормонів тироксину (Т4) та трийодотироніну (Т3) на основний енергетичний

обмін, забезпечує морфогенез та нормальне функціонування органів та систем організму [1, 2]. Упродовж останнього десятиліття тироїдна патологія за поширеністю посіла перше місце серед

ендокринопатій, охоплюючи близько 3% населення світу [1, 3]. Дисбаланс тироїдних гормонів часто супроводжує вагітність: жінок він уражає пересічно у 20 разів частіше, ніж чоловіків, і чинить вагомий вплив на розвиток потомства [4-6]. До життєво важливих органів-мішеней щитоподібної залози належать наднирники [2, 7]. Однак якщо дослідженню впливу тироїдної патології на надниркові залози дорослих присвячена значна кількість робіт (див. огляд [8]), вплив дисбалансу тироїдних гормонів материнського організму на морфогенез та гістофізіологію наднирників потомства вивчений значно гірше [9-11].

Аналіз доступної літератури показав відсутність публікацій, які б характеризували зміни глікокон'югатів структурних компонентів наднирників потомства, що розвивалося на тлі гіпо- чи гіпертирозу материнського організму, хоча відомо, що гліком клітин відіграє важливу роль у реалізації фундаментальних процесів життєдіяльності. Так, вуглеводні детермінанти біополімерів забезпечують взаєморозпізнавання та взаємодію клітин з їхнім мікрооточенням, що, зокрема, проявляється у контактному гальмуванні проліферації, забезпеченні диференціації та морфогенезу органів, взаємодії клітин з інфекційними чинниками, ініціації процесів апоптозу тощо [12-16]. В арсеналі сучасних інструментів морфологічних досліджень вагоме місце належить методам лектинової гістохімії. Володіючи унікальною властивістю вибірково зв'язуватися з термінальними моно- чи дисахаридними залишками олігосахаридних ланцюгів глікополімерів, лектини дозволяють отримати достовірну інформацію щодо їхньої гістотопографії, перебування при реалізації процесів ембріо- та морфогенезу, у динаміці фізіологічних відправлень та розвитку різноманітних форм патології [17-21]. Лектини також дозволяють селективно виявляти окремі субпопуляції клітин, органели, пов'язані з процесингом глікополімерів, а також ділянки плазматичної мембрани, задіяні у тих чи інших механізмах клітинної активності [17, 23, 24]. Визначним маркером як ембріональних, так і патологічно змінених тканин є лектин арахісу (PNA), який розпізнає та специфічно взаємодіє з вуглеводними детермінантами DGal β (1-3)DGalNAc глікокон'югатів.

Мета: дослідити вплив експериментального гіпо- та гіпертирозу материнського організму на експонування рецепторів лектину арахісу та морфометричні параметри структурних компонентів надниркових залоз щурів упродовж пре- і постнатального морфогенезу.

Матеріали та методи

Дослід проводили на 40 самках лінії Вістар масою 180-200 г, які були розділені на три групи: перша – контрольна (10), друга – з індукованим гіпотирозом (15), третя – з гіпертирозом (15), від яких отримали потомство. Тварини утримува-

лись у стандартних умовах виварію з дотриманням санітарно-гігієнічних норм та раціону харчування. Дослідження здійснювалися згідно погодження Комісії з біоетики ЛНМУ імені Данила Галицького (Протокол № 3 від 14.03.2016 р.) у відповідності з положенням Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, яких використовують в експериментальних та інших наукових цілях (Страсбург, 1986 р.), Директиви Ради Європи 2010/63/EU, Закону України № 3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження».

Гіпотироїдний стан досягали використанням мерказолілу у добовій дозі 10 мг/кг; гіпертироз індукували L-тироксинам у добовій дозі 100 мкг/кг маси тіла тварин. Мерказоліл («Здоров'я», Харків) і L-тироксин («Berlin-Chemie», Німеччина) додавали у їжу у вигляді порошку щоденно протягом двох тижнів до початку вагітності, упродовж усього гестаційного періоду та перших 40 днів постнатального розвитку потомства. Після другого тижня від початку експерименту шляхом щоденного взяття мазків з піхви самок контролювали естральний цикл. Самок в стадії еструсу підсаджували до інтактних самців. Перший день вагітності визначали за наявністю сперматозоїдів у піхвових мазках.

Контроль ефективності моделювання гіпо- та гіпертироїдного стану здійснювали шляхом визначення гормонів T3 та T4 у сироватці крові самок радіологічним методом у радіоізотопній лабораторії Львівської обласної клінічної лікарні. Для дослідження були використані надниркові залози потомства щурів на 20-у пренатальну, 1-у, 10-у, 40-у добу постнатального розвитку, а також дорослих щурів у стані екзогенного гіпо- та гіпертирозу, які забирали після декапітації тварин під діетилефірним наркозом. Наднирники розрізали по серединній площині, фіксували у рідині Буена, зневоднювали у спиртах зростаючої концентрації, ущільнювали і заливали у парафін.

Для отримання оглядових препаратів зрізи товщиною 5-7 μ m зафарбовували гематоксиліном та еозином. Вуглеводні детермінанти структурних компонентів наднирників виявляли з використанням лектину арахісу (PNA, специфічний до DGal β (1-3)DGalNAc), кон'югованим з пероксидазою хрому (Sigma, США). Візуалізацію місць зв'язування лектину проводили 3,3'-діамінобензидину тетрагідрохлоридом (Sigma, США) у присутності пероксиду водню; ядра клітин дофарбовували гематоксиліном. Обробку зрізів лектинами та контроль специфічності гістохімічних реакцій проводили як описано раніше [17].

Морфометричні дослідження включали вимірювання співвідношення товщини трьох зон кіркової речовини, а також розмірів клітин, їхніх ядер та ядерно-цитоплазматичного співвідно-

шення. Огляд та фотографування гістологічних препаратів здійснювали за допомогою мікроскопа «Granum», обладнаним камерою «Echo-Imager 502000» з використанням програми «TourView 3.7». Морфометричні дослідження проводили з використанням комп'ютерної програми UTHSCSA «Image Tool for Windows. Version 2.00» (USA). Статистичну обробку даних здійснювали за допомогою комп'ютерної програми Microsoft Office Excel 2003 та STATISTICA.6 (USA) [25] із визначенням «М» та середньої похибки «m», які представлено у Табл. 1 та 2. У роботі були використані три рівні достовірності: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$.

Результати та їх обговорення

Лектинова гістохімія

На 20-у добу пренатального онтогенезу у тварин контрольної групи лектин PNA інтенсивно маркував судини мікроциркуляторного русла, які чітко вирізнялися на тлі слабо реактивної паренхіми надниркової залози (рис.1А). В центральних ділянках органа виявлені поодинокі островці дрібних клітин з гетерохроматинізова-

ними ядрами і світлою цитоплазмою, які нагадували описані Parker et al. [26] попередники хромафіноцитів мозкової речовини (рис.1Б). На тлі гіпотирозу материнського організму зростала реактивність цитоплазматичних глікокон'югатів адренкортикоцитів (рис.1В), що може свідчити про певну затримку розвитку органа, оскільки лектин PNA є визнаним маркером ембріональних тканин [17, 18]. У наднирниках гіпотирозних тварин привертала увагу вазодилатація, а також відсутність островців хромафіних клітин, що може свідчити про затримку морфогенезу. Подібний феномен затримки морфогенезу надниркових залоз потомства на тлі гіпотирозу материнського організму був задокументований у публікації Детюк і співавт. [9] з використанням інших методів. При гіпертирозі морфологічні зміни у надниркових залозах на даному етапі були подібні до таких як при гіпотирозі. Проте гіпертироз індукував редукцію рецепторів лектину арахісу (рис.1Г), що опосередковано свідчить про прискорення процесів морфогенезу.

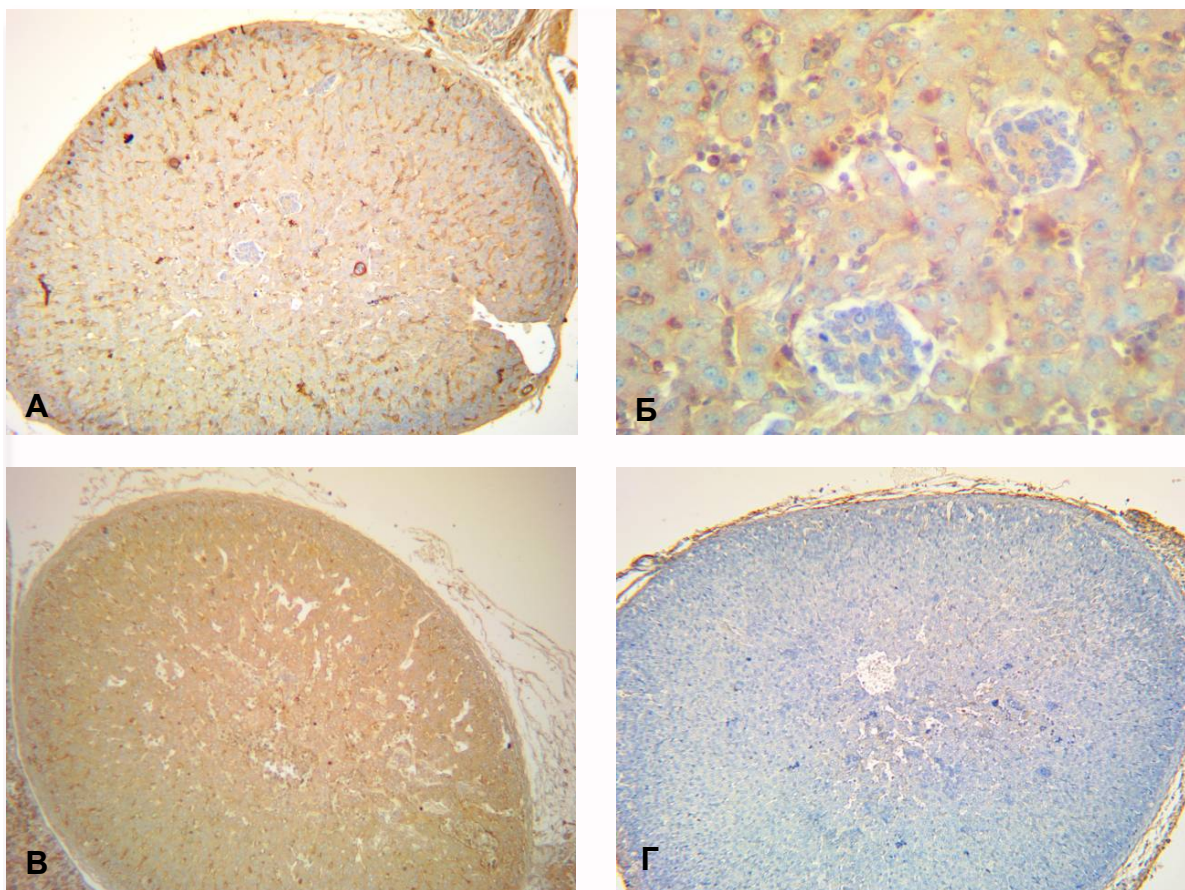


Рис. 1. Надниркові залози плодів щура на 20-у добу пренатального розвитку. Обробка лектином PNA, ядра клітин дофарбовані гематоксиліном. А, Б – наднирник тварини контрольної групи: в центрі поля зору островці мозкової речовини, інтенсивна взаємодія лектину з судинним ендотелієм; В – наднирник плода що розвивався за умов гіпотирозу материнського організму: вазодилатація у поєднанні з підвищеним експонуванням рецепторів лектину; Г – наднирник плода за умов материнського гіпертирозу: редукція реактивності. А, В, Г $\times 100$, Б $\times 400$.

На 1-у постнатальну добу надниркові залози тварин контрольної групи демонстрували ареактивність адренкортикоцитів у поєднанні з інтенсивною взаємодією лектину PNA з численними

групами хромафіноцитів які, однак, ще не формували виокремленої мозкової речовини (рис.2А, Б).

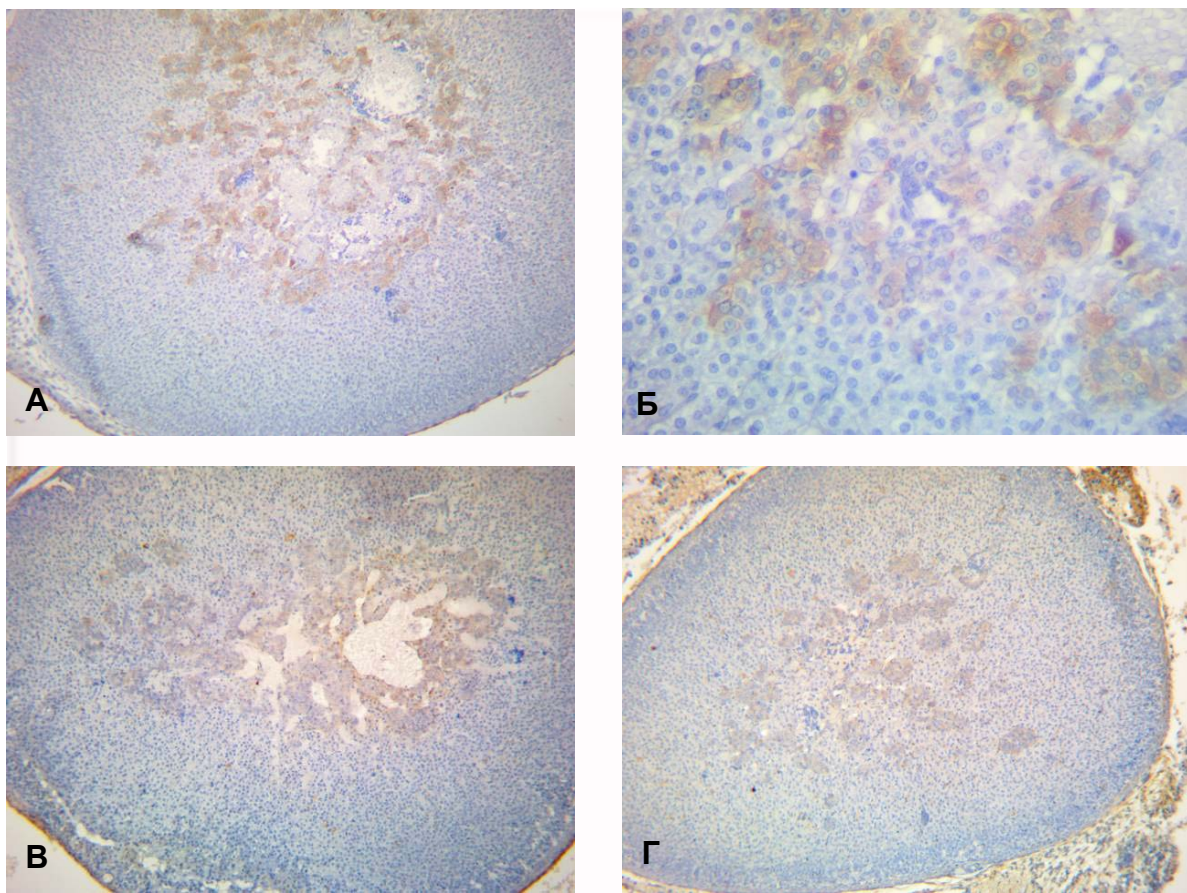


Рис. 2. Наднирники новонароджених щурів. А, Б – контрольна група, інтенсивна реактивність тяжів хромафіноцитів мозкової речовини, що формується; В – гіпотироз: явища вазодилатації у поєднанні зі зниженням реактивності хромафіноцитів; Г – гіпертироз: помірна реактивність тяжів хромафіноцитів. А, В, Г $\times 100$, Б $\times 400$.

Подібне селективне маркування лектином PNA клітин мозкової речовини було ідентифіковано Ahi et al. [27] у ході морфогенезу наднирників миші починаючи від 19-ї доби пренатального онтогенезу, а також Haines [28] у надниркових залозах дорослих собак. Виявлено високу спорідненість хромафіноцитів щура також до лектинів WGA, HPA, LCA, SNA, що свідчить про синтез цими клітинами високоглікозильованих біополімерів (зокрема, хромогранінів) з термінальними залишками DGlcNAc, DGalNAc, DMan, NeuNAc. Гіпотироз материнського організму супроводжувався явищами вазодилатації у поєднанні зі зниженням реактивності хромафіноцитів потомства у порівнянні з контрольними показниками (рис.2В). Подібно до гіпотирозу, гіпертироз також індукував зниження вмісту рецепторів лектину PNA у цитоплазмі хромафіноцитів (рис.2Г), що свідчить про певні порушення метаболізму цих клітин.

На 10-у постнатальну добу мозкова речовина

чітко відмежована від кори (рис.3А). На 10-у та 40-у добу постнатального розвитку, рівно ж як і у дорослих тварин усіх трьох експериментальних груп, хромафіноцити мозкової речовини інтенсивно взаємодіяли з лектином PNA, тоді як адренкортикоцити демонстрували від'ємну або ж слабку реактивність (рис.3Б). На 40-у постнатальну добу та у дорослих тварин у складі мозкової речовини виявлені дві субпопуляції клітин, які відрізнялися спорідненістю до лектину PNA (рис.3В, Г), що може бути пов'язано як з диференціацією хромафіноцитів на епінефроцити та нореpineфроцити, так і з різними фазами секреторного циклу, у яких перебували вищезначені клітини.

Отримані нами дані узгоджуються з результатами Katz et al. [31], які описали можливість селективного маркування лектином арахісу хромафіноцитів мозкової речовини наднирників щура, тоді як симпатичні нейрони тієї ж локалізації з цим лектином виявились ареактивними. На тлі

як гіпо-, так і гіпертирозу у складі секреторних гранул хромафіноцитів тварин вищезначених вікових груп задокументовано накопичення глікополімерів з термінальними залишками

DGal β (1-3)DGalNAc (рис.3Д, Е), що може свідчити як про порушення процесів їх кінцевого глікозування, так і затримку у виведенні продуктів секреції.

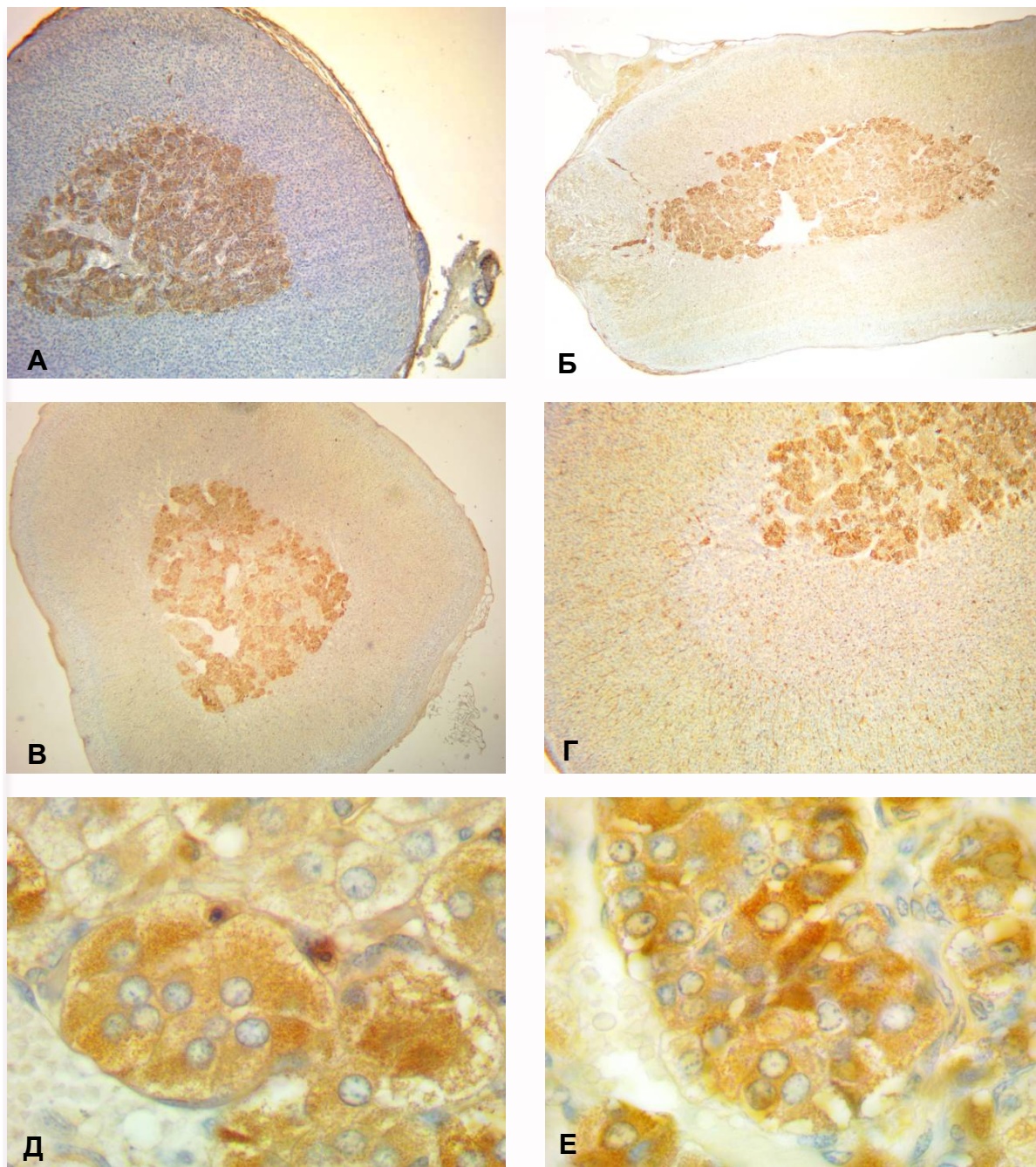


Рис. 3. Надниркові залоза щурів контрольної групи на 10-у (А, Б), 40-у добу постнатального онтогенезу (В, Г), дорослих тварин з модельованим гіпотирозом (Д) та гіпертирозом (Е): різко PNA-позитивна мозкова речовина чітко відмежована від ареактивної кори, серед хромафіноцитів мозкової речовини можна розрізнити епінефроцити (містять цитоплазматичу зернистість), та норепінефроцити (клітини з світлою цитоплазмою). А, Б, В $\times 40$, Г $\times 100$, Д, Е $\times 1000$.

Подібний феномен накопичення рецепторів лектину арахісу на тлі дисбалансу тиреоїдних гормонів був описаний раніше у слинних залозах щурів, однак якщо гіпотироз індукував затримку

секреції, то гіпертироз, навпаки, її прискорював [30]. Стимуляторний вплив тироксину на гіпоталамо-гіпофізарно-адреналову вісь з відповідним підвищенням рівня секреції кортикостероїдів

задокументований Johnson et al. [7].

Морфометричні дослідження

Як видно з Табл.1, на 10-у добу постнатального розвитку, коли морфогенез надниркових залоз щурів згідно з даними Parker et al. [26] в основному завершується, експериментальний гіпотироз материнського організму обумовлював достовірне збільшення товщини усіх трьох зон кіркової речовини, ймовірно, внаслідок вазодилатації та підвищеного кровонаповнення, тоді як на тлі гіпертирозу виявлено незначне потовщен-

ня пучкової зони у поєднанні зі зменшенням товщини клубочкової та сітчастої зон. На 40-у добу постнатального розвитку, після переходу потомства на самостійне харчування, наслідком материнського гіпотирозу було незначне потовщення клубочкової зони з достовірним зменшенням пучкової та сітчастої зон. Гіпертироз індукував більш як двократне потовщення сітчастої зони у поєднанні з достовірним зменшенням товщини пучкової зони.

Таблиця 1

Показники товщини зон кіркової речовини наднирників потомства щурів, що розвивалося в умовах дисбалансу тиреоїдних гормонів материнського організму (мкм)

Доба постнатального розвитку	Зони кіркової речовини надниркової залози	Групи тварин		
		Контрольна група	Експериментальний гіпотироз	Експериментальний гіпертироз
		M±m (мкм)	M±m (мкм)	M±m (мкм)
10-а доба	КЗ	41,19±0,61	49,37±1,61***	33,41±1,08***
	ПЗ	166,34±0,91	185,95±4,38***	172,52±2,43*
	СЗ	17,89±0,48	20,07±1,37	17,40±1,04
	Разом	225,42±2,3	255,39±7,36	223,33±4,55
40-а доба	КЗ	43,07±1,69	55,21±1,94***	43,42±2,31
	ПЗ	443,44±9,83	254,08±3,06***	287,03±5,57***
	СЗ	104,54±6,04	57,89±4,47***	255,76±6,89***
	Разом	591,05±17,56	367,18±9,47	586,21±14,77
120-а доба	КЗ	62,43±3,26	70,62±2,01*	57,54±1,63
	ПЗ	260,19±3,69	281,89±4,51**	413,67±5,67***
	СЗ	106,93±2,76	191,01±4,82***	199,48±3,95***
	Разом	429,55±9,71	543,52±11,34	670,69±11,25

Примітки: КЗ – клубочкова зона, ПЗ – пучкова зона, СЗ – сітчаста зона. * p<0,05; ** p<0,01; *** p<0,001.

У дорослих тварин гіпотироз обумовлював незначне збільшення товщини клубочкової і пучкової зон у поєднанні з достовірним розростанням сітчастої зон. Гіпертирозний стан супроводжувався незначним зменшенням клубочкової зони з одночасним півторакратним збільшенням пучкової та майже двократним збільшенням сітчастої зон. З огляду на дані літератури щодо функціональної спеціалізації окремих зон наднирників щура, а саме, трансформації фетальної кори у сітчасту зону з присутністю в останній резидентних макрофагів [26], виявлені закономірності можна інтерпретувати як наслідок підвищеної проліферативної активності клітин пучкової зони у поєднанні з посиленням процесів апоптозу з наступною реутилізацією зруйнованих адренкортикоцитів у сітчастій зоні. Отримані дані демонструють вагомий вплив дисбалансу тиреоїдних гормонів на морфометричні характеристики надниркових залоз як у процесі їх перинатального морфогенезу, так і у дорослих тварин.

Отримані нами результати морфометричних досліджень узгоджуються з даними Детюк і співавт. [9], які задокументували зменшення

маси кіркової речовини наднирників потомства, що розвивалося за умов гіпотирозу материнського організму у проміжку між 10-ю і 40-ю постнатальною добою. Поряд із тим, нами встановлено, що у дорослих щурів гіпотироз індукував приріст кіркової речовини, що може бути пов'язано з вазодилатацією і периваскулярним набряком тканин. На 40-у постнатальну добу товщина кіркової речовини потомства, що розвивалося на тлі материнського гіпертирозу, не відрізнялась від показників контрольної групи тварин. Правдоподібно, в даному випадку мало місце зрівноваження двох взаємопротилежних процесів – підвищеної васкуляризації кори наднирника та гіперплазії адренкортикоцитів з одного боку і їхнього апоптозу та реутилізації макрофагами сітчастої зони – з іншого [10]. Гіпертироз дорослих тварин в умовах нашого дослідження супроводжувався істотним збільшенням товщини кіркової речовини, що узгоджується з описаним Johnson et al. [7] ефектом активності гіпоталамо-гіпофізарно-адреналової осі під впливом експериментального гіпертирозу.

Як видно з Табл.2, клітини наднирників потомства, що розвивалося за умов як гіпо-, так і

гіпертирозу материнського організму, були достовірно менших розмірів, з більшими ядрами та підвищеним ядерно-цитоплазматичним співвідношенням у порівнянні з контрольними показниками, що свідчить про напруженість у них метаболічних процесів. Спостерігалась тенденція до нівелювання означених змін на 40-у по-

стнатальну добу та посилення їхньої маніфестації у дорослих щурів з модельованою тироїдною патологією.

При порівнянні отриманих нами морфометричних показників з даними літератури, привертали увагу значні розбіжності результатів, отриманих різними авторами.

Таблиця 2
Морфометричні показники клітин наднирників потомства щурів, що розвивалося за умов гіпо- та гіпертирозу материнського організму (мкм)

Доба розвитку	Зони наднирника	Параметри	Контрольна група M±m	Групи тварин	
				Експериментальний гіпотироз M±m	Експериментальний гіпертироз M±m
20-а пренатальна доба	КР	Сц, мкм ²	120,39±13,16	87,84±11,91*	45,33±4,41***
		Ся, мкм ²	33,19±2,26	34,43±3,13	25,05±0,84**
		ЯЦС	0,31±0,01	0,47±0,09	0,59±0,06***
	МР	Сц, мкм ²	38,87±5,83	26,08±3,43*	18,45±2,23**
		Ся, мкм ²	18,55±1,28	19,99±1,61	10,81±1,17***
		ЯЦС	0,63±0,14	0,95±0,21	0,69±0,14
1-а постнатальна доба	КР	Сц, мкм ²	108,41±6,61	75,53±11,04	70,43±6,74***
		Ся, мкм ²	16,39±0,56	21,03±0,97***	18,41±0,69*
		ЯЦС	0,16±0,01	0,33±0,05**	0,28±0,02***
	МР	Сц, мкм ²	101,04±10,85	31,02±3,74***	24,04±4,24***
		Ся, мкм ²	21,33±2,51	19,06±0,54	16,94±1,75
		ЯЦС	0,23±0,04	0,68±0,08***	1,63±0,77*
10-а постнатальна доба	КЗ	Сц, мкм ²	61,76±6,57	38,19±6,12**	47,34±8,21
		Ся, мкм ²	13,95±1,22	28,96±2,14***	19,41±1,98*
		ЯЦС	0,26±0,05	1,02±0,23**	0,55±0,14*
	ПЗ	Сц, мкм ²	74,98±5,75	68,81±7,5	48,32±5,38**
		Ся, мкм ²	17,49±1,47	21,84±0,74**	22,97±2,03*
		ЯЦС	0,25±0,03	0,35±0,04*	0,61±0,17*
	СЗ	Сц, мкм ²	38,25±2,71	42,71±4,81***	40,62±3,76**
		Ся, мкм ²	18,95±1,25	21,82±0,86***	16,27±1,08***
		ЯЦС	0,47±0,02	0,58±0,07***	0,42±0,04***
	Е	Сц, мкм ²	40,58±3,26	46,19±5,21	38,18±4,04
		Ся, мкм ²	17,54±1,51	20,96±1,42*	15,49±1,74*
		ЯЦС	0,43±0,05	0,53±0,11	0,47±0,09
Н	Сц, мкм ²	25,13±2,31	32,91±3,62*	53,34±8,82*	
	Ся, мкм ²	12,72±1,18	14,74±1,51***	26,45±1,52***	
	ЯЦС	0,48±0,03	0,51±0,09	0,61±0,09	
40-а постнатальна доба	КЗ	Сц, мкм ²	66,91±4,35	44,37±4,49*	44,04±5,58**
		Ся, мкм ²	15,37±1,28	15,97±0,68	21,89±1,22**
		ЯЦС	0,24±0,03	0,38±0,04*	0,55±0,07***
	ПЗ	Сц, мкм ²	90,87±8,39	57,19±8,33**	38,06±4,95***
		Ся, мкм ²	14,75±1,06	17,96±0,53**	17,98±0,93*
		ЯЦС	0,17±0,01	0,35±0,04***	0,55±0,08***
	СЗ	Сц, мкм ²	56,92±3,55	48,83±4,09	32,48±2,97***
		Ся, мкм ²	13,84±1,35	12,89±0,77	17,28±1,34*
		ЯЦС	0,26±0,03	0,28±0,03	0,58±0,07***
	Е	Сц, мкм ²	57,75±6,12	56,02±4,32	72,92±7,67
		Ся, мкм ²	27,17±3,87	18,71±1,47*	25,48±2,08
		ЯЦС	0,51±0,87	0,34±0,02*	0,38±0,05
Н	Сц, мкм ²	28,21±2,39	24,98±2,38	23,62±2,63	
	Ся, мкм ²	14,68±1,36	12,82±1,31	14,55±1,84	
	ЯЦС	0,57±0,09	0,63±0,17	0,69±0,13	

Таблиця 2 (продовження)

Доба розвитку	Зони наднирника	Параметри	Контрольна група	Групи тварин	Експериментальний гіпертироз
			М±m	Експериментальний гіпотироз	Експериментальний гіпертироз
			М±m	М±m	М±m
120-а постнатальна доба	КЗ	Сц, мкм ²	76,02±7,89	90,14±4,96	62,71±5,19
		Ся, мкм ²	23,35±2,16	15,04±0,82**	21,04±1,15
		ЯЦС	0,34±0,05	0,17±0,01*	0,35±0,03
	ПЗ	Сц, мкм ²	88,19±10,86	82,83±5,86	159,49±15,05***
		Ся, мкм ²	23,93±0,75	26,65±1,01	21,04±1,84
		ЯЦС	0,31±0,04	0,33±0,02	0,15±0,03**
	СЗ	Сц, мкм ²	39,83±4,16	57,15±4,35**	41,74±4,05
		Ся, мкм ²	14,32±0,74	21,09±1,52**	17,62±0,79**
		ЯЦС	0,39±0,06	0,39±0,04	0,47±0,06
	Е	Сц, мкм ²	60,11±3,59	116,16±7,17***	83,59±9,56*
		Ся, мкм ²	24,21±1,49	28,55±1,4*	25,79±1,26
		ЯЦС	0,41±0,03	0,25±0,02***	0,35±0,05
	Н	Сц, мкм ²	31,27±2,63	96,79±10,79***	33,78±3,11
		Ся, мкм ²	20,63±0,91	29,61±0,93***	15,91±1,45**
		ЯЦС	0,69±0,06	0,36±0,08**	0,51±0,8*

Примітки: КР – кіркова речовина; МР – мозкова речовина; КЗ – клубочкова зона; ПЗ – пучкова зона; СЗ – сітчаста зона; Сц – площа цитоплазми; Ся – площа ядра; ЯЦС – ядерно-цитоплазматичне співвідношення; * p<0,05; ** p<0,01; *** p<0,001.

Зокрема, за даними Скотаренко і співавт. [31] товщина клубочкової зони кори наднирників дорослих еутироїдних щурів лінії Вістар складає 77 μm, пучкової зони – 233 μm, сітчастої зони – 186 μm; середня площа клітин клубочкової та сітчастої зон становить 154 μm², клітини пучкової зони – 314 μm², епінефроцита – 314 μm², норефінефроцита – 201 μm². У публікації Грабовського [32] були визначені наступні параметри наднирників: товщина клубочкової зони – 30 μm, пучкової – 270 μm, сітчастої – 171 μm. Стрижикова і співавт. [33] подають наступні дані: середня площа клітини клубочкової зони 75 μm², пучкової – 146 μm², сітчастої – 44 μm². Результати дослідження Бузуєвої і співавт. [34]: середня площа клітини клубочкової зони 132 μm², пучкової – 153 μm², сітчастої – 124 μm².

Розбіжності у визначенні товщині окремих зон кори наднирників можна пояснити неадекватністю орієнтації у просторі площини чи глибини зрізу гістологічних проб, індивідуальною лабільністю кровонаповнення органа на тлі передзабійного стресу, а також вираженістю проліферативної активності чи процесів апоптозу у ньому, специфікою будови наднирників окремих ліній щурів. Інтерпретація істотних розбіжностей у площі цитоплазми чи ядер окремих популяцій клітин може ґрунтуватися на впливі методів фіксації та процесингу гістологічного матеріалу, а також можливих хибках використаного математичного методу. Вищезазначені особливості слід враховувати при інтерпретації результатів дослі-

дження надниркових залоз, складність мікроморфології та гістофізіології яких вимагає застосування багатофакторного аналізу. Разом із тим, порівняння показників, які були отримані з застереженням ідентичних умов взяття гістологічного матеріалу, його фіксації і обробки препаратів слід вважати валідними.

Підсумок

Проведене дослідження продемонструвало суттєвий вплив як гіпо-, так і гіпертирозу материнського організму на морфогенез, мікроморфологічні та метаболічні характеристики надниркових залоз потомства, зрештою гіпертироз індукував більш виражені зміни у порівнянні з гіпотирозом. Лектин арахісу може бути рекомендований як селективний гістохімічний маркер клітин мозкової речовини надниркових залоз щурів, починаючи від 10-ї постнатальної доби і на більш пізніх етапах морфогенезу.

Перспективи подальших досліджень

Розширити спектр використаних лектинів для визначення характеру модифікації глікополімерів наднирника у ході його постнатального морфогенезу, а також з метою ідентифікації окремих субпопуляцій клітин та явищ апоптозу. Дослідити рівень гормонів наднирника, провести імуногістохімічне визначення фактора росту судинного ендотелію, маркерів проліферації та апоптозу у складі структурних компонентів надниркових залоз на тлі тироїдного дисбалансу материнського організму.

Літературні джерела
References

1. Pankiv VI. [Practical thyroidology]. Donetsk: Zaslavskiy; 2011. 224 p. Ukrainian.
2. Boelaert K, Franklyn JA. Thyroid hormones in health and disease. *J Endocrinol*;2005;187:1-15.
3. Prystupiuk OM. [Hypothyroidism: alterations of organs and systems]. *Mezhdunarodnyi Endocrinologicheskii Zhurnal*. 2011;4(36):104-9. Ukrainian.
4. Pasechko NV, Naumova LV, Heriak CM. [Thyroid pathology and pregnancy]. *Visnyk Naukovykh Doslidzhen*. 2009;4(57):54-6. Ukrainian.
5. Pashkovska NV. [Hypothyroidism and pregnancy]. *Bukovynskiy Medychnyi Visnyk*. 2014;18(1):168-72. Ukrainian.
6. Perminova ST, Fadeyev VV, Korneyeva IV. [Reproductive function of women with thyroid pathology]. *Problemy Reprodukci*. 2006;12(1):70-7. Russian.
7. Johnson EO, Kamilaris TC, Calogero AE, Gold PW, Chrousos GP. Experimentally-induced hyperthyroidism is associated with activation of the rat hypothalamic-pituitary-adrenal axis. *Eur J Endocrinol*. 2005;153(1):177-85.
8. Yashchenko A, Lutsyk S. The influence of hypo- and hyperthyroidism on morphogenesis and histophysiology of adrenal glands. *J Embryol Stem Cell Res*. 2018;2(1):000107.
9. Detiuk ES, Avgustinovich MS. [On the morpho-functional peculiarities of progeny adrenal glands obtained from female rats with experimental hypothyroidism]. *Archiv anatomii, gistologii i embriologii*. 1976;71(10):41-5. Russian.
10. Karaca T, Hulya UZY, Karabacak R, Karaboga I, Demirtas S, Cagatay Cicek A. Effects of hyperthyroidism on expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) and apoptosis in fetal adrenal glands. *Eur J Histochem*. 2015;59(4):258-62.
11. Wondisford FE. A direct role for thyroid hormone in development of the adrenal cortex. *Endocrinology* 2015;156(6):1939-40.
12. Bilyy R, Stoika R. [Sweet taste of cell death: role of carbohydrate recognition systems. In: *Biochemistry and biotechnology for modern medicine*]. Ed. S. Komisarenko. Kyiv: Moskalenko Publishing House; 2013: 615-36. Ukrainian.
13. Brooks SA, Dwek MV, Schumacher U. *Functional and molecular glycobiology*. Oxford: Bios Scientific Publishers; 2002. 268 p.
14. Gabius HJ. The sugar code: why glycans are so important. *Biosystems*. 2018;164:102-11.
15. Ohtsubo K, Marth JD. Glycosylation in cellular mechanisms of health and disease. *Cell*. 2006;126:855-67.
16. Varki A, Cummings RD, Esko JD, Freeze HH, Stanley P, Bertozzi CR, Hart GW, Etzler ME. *Essentials of glycobiology*. 2nd ed. Cold Spring Harbor: Cold Spring Harbor Laboratory Press; 2009: 29-178.
17. Lutsyk AD, Detiuk ES, Lutsyk MD. [Lectins in histochemistry]. Lviv: Vyshcha shkola; 1989. 144 p. Russian.
18. Antoniuk VO. [Lectins and their sources]. Lviv: Kvant; 2005. 554 p. Ukrainian.
19. Hirabayashi J, ed. *Lectins. Methods and protocols. Methods in molecular biology* 1200. New-York: Springer; 2014. 614 p.
20. Pellicciari C, Biggiogera M, eds. *Histochemistry of single molecules. Methods and protocols. Methods in molecular biology, vol.1560. Part II. Lectin histochemistry*. NY: Springer; 2017: 93-147.
21. Sharon N, Lis H. *Lectins*. 2nd ed. Dordrecht: Springer; 2007. 464 p.
22. Dan X, Liu W, Ng TB. Development and applications of lectins as biological tools in biomedical research. *Medicinal Research Reviews*. 2015;36:221-47.
23. Roth J. Lectins for histochemical demonstration of glycans. *Histochem Cell Biol*. 2011;136(2):117-30.
24. Smolkova O, Zavadka A, Bankston P, Lutsyk A. Cellular heterogeneity of rat vascular endothelium as detected by HPA and GS-I lectin-gold probes. *Med Sci Monit*. 2001;7(4):659-68.
25. Humetski RYA, Palianytsia BM, Chaban ME. [Mathematical methods in biology: theoretical information, programmed practical work, computer tests]. Lviv: Vyshcha shkola; 2004. 111 p. Ukrainian.
26. Parker GA, Picut CA, eds. *Atlas of histology of the juvenile rat*. Amsterdam: Elsevier-Academic Press; 2016:261-91.
27. Ahi M, Zamansoltani F, Taheri MMH, Bideskan ARE. The role of GalNAc terminal sugar on adrenal gland development. *Adv Biol Res*. 2007;1(1-2):34-9.
28. Haines DM. Peanut agglutinin immunohistochemical staining of normal and neoplastic canine tissues. *Vet Pathol*. 1993;30:333-42.
29. Katz DM, White ME, Hall AK. Lectin binding distinguishes between neuroendocrine and neuronal derivatives of the sympathoadrenal neural crest. *Journal of Neurobiology*. 1995;26(2):241-252.
30. Lutsyk AD, Yashchenko AM, Detiuk ES. [Influence of thyroid hormones on the histotopography of lectin receptors in rat salivary glands]. *Biulleten Eksperimentalnoi Biologii i Meditsyny*. 1987;103(4):492-5. Russian.
31. Skotarenko TA, Shepitko VI. [Reaction of adrenal cortex to acute aseptic peritonitis and its correction with cryoconserved placenta injection]. *Svit Medytsyny ta Biologii*. 2016;1:156-9. Ukrainian.

ian.

32. Grabovskiy SS. [Morphometric characteristics of rat adrenals and kidneys at pre-slaughter stress after application of biological active substances]. *Studia Biologica*. 2014;8(2):43-56. Ukrainian.

33. Strizhikova SV, Strizhikov VK, Basalayeveva NL. [Influence of iodine-induced blackage of thyroid gland on the morphological parameters of female rat

adrenals]. *Izvestiya Orenburgskogo Gosudarstvennogo Agrarnogo Universiteta*. 2014;6(50):91-3. Russian.

34. Buzueva II, Filyushina EE, Shmerling MD, Markel AL, Jacobson GS. [The chronic stress influence on the adrenal glands structure in hypertensive rats after preventive treatment with terazosin]. *Biulleten SO RAMN*. 2010;30(4):56-61. Russian.

Луцик С.О., Струс Х.І., Яценко А.М. Лектинова гістохімія та морфометрична характеристика надниркових залоз потомства щурів, що розвивалося за умов дисбалансу тироїдних гормонів материнського організму.

РЕФЕРАТ. До життєво важливих органів-мішеней щитоподібної залози належать наднирники. Аналіз доступної літератури показав відсутність публікацій, які б характеризували зміни глікокон'югатів структурних компонентів наднирників потомства, що розвивалося на тлі гіпо- чи гіпертирозу материнського організму, хоча відомо, що гліком клітин відіграє важливу роль у реалізації фундаментальних процесів життєдіяльності. У роботі вивчали гістотопографію рецепторів лектину арахісу (PNA) та морфометричні параметри надниркових залоз потомства щурів, що розвивалося за умов експериментального гіпотирозу материнського організму. Гіпотироїдний стан досягали використанням мерказолілу у добовій дозі 10 мг/кг; гіпертироз індукували L-тироксином у добовій дозі 100 мкг/кг маси тіла тварин. Мерказоліл і L-тироксин додавали у їжу щоденно протягом двох тижнів до початку вагітності, упродовж усього гестаційного періоду та перших 40 днів постнатального розвитку потомства. Контроль ефективності моделювання гіпо- та гіпертироїдного стану здійснювали шляхом визначення гормонів Т3 та Т4 у сироватці крові самок радіологічним методом. Проведене дослідження продемонструвало суттєвий вплив дисбалансу тироїдних гормонів материнського організму на морфогенез, мікроморфологію та метаболічні характеристики надниркових залоз потомства, причому гіпертироз індукував більш виражені зміни у порівнянні з гіпотирозом. Як гіпо-, так і гіпертироз супроводжувалися істотним зменшенням розміру адренкортикоцитів у поєднанні зі збільшенням ядерно-цитоплазматичного співвідношення, вираженою перебудовою окремих зон кіркової речовини наднирників.

Ключові слова: лектинова гістохімія, морфометрія, надниркова залоза щура, морфогенез, гіпо- та гіпертироз материнського організму.

Луцик С.А., Струс Х.И., Яценко А.М. Лектиновая гистохимия и морфометрическая характеристика потомства крыс, которое развивалось в условиях дисбаланса тироидных гормонов материнского организма.

РЕФЕРАТ. К жизненно важным органам-мишеням щитовидной железы относятся надпочечники. Анализ доступной литературы показал отсутствие публикаций, характеризующих изменения гликоконъюгатов структурных компонентов надпочечников потомства, развивавшегося на фоне гипо- или гипертиреоза материнского организма, хотя известно, что гликом клеток играет важную роль в реализации фундаментальных процессов жизнедеятельности. В работе изучали гистотопографию рецепторов лектина арахиса (PNA) и морфометрические параметры надпочечников потомства крыс, которое развивалось в условиях экспериментального гипо- и гипертиреоза материнского организма. Гипотиреоидное состояние достигали использованием мерказолила в дозе 10 мг/кг; гипертиреоз индуцировали L-тироксином в дозе 100 мкг/кг массы тела животного. Мерказолил и L-тироксин добавляли в пищу ежедневно в течение двух недель до начала беременности, на протяжении всего гестационного периода и в первые 40 дней постнатального развития потомства. Контроль эффективности моделирования гипо- и гипертиреоидного состояния осуществляли путем определения гормонов Т3 и Т4 в сыворотке крови самок радиологическим методом. Проведенное исследование продемонстрировало существенное влияние дисбаланса тиреоидных гормонов материнского организма на морфогенез, микроморфология и метаболические характеристики надпочечников потомства, причем гипертиреоз индуцировал более выраженные изменения по сравнению с гипотиреозом. Как гипо-, так и гипертиреоз сопровождалось существенным уменьшением размера адренкортикоцитов в сочетании с увеличением ядерно-цитоплазматического соотношения, выраженной перестройкой отдельных зон коры надпочечников.

Ключевые слова: лектиновая гистохимия, морфометрия, надпочечник крыс, морфогенез, материнский гипо- и гипертиреоз.