

Є.А. Согомонян
І.В. Челпанова
Л.В. Панкевич
Н.О. Амбарова

Львівський національний
медичний університет імені
Данила Галицького, Львів,
Україна.

Надійшла: 24.01.2023

Прийнята: 15.01.2023

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2023.1.49-55>

УДК 616.441-008.61/.64-092.9

ПОРІВНЯЛЬНИЙ АНАЛІЗ ЕКСПЕРИ- МЕНТАЛЬНИХ ФОРМ ГІПО- ТА ГІПЕР- ТИРОЇДНИХ СТАНІВ

Sogomonyan Ye.A.  ✉, Chelpanova I.V. , Pankevych L.V. , Ambarova N.A.  Comparative analysis of experimental forms of hypo- and hyperthyroid conditions.

Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Lviv, Ukraine.

ABSTRACT. The relevance. Modeling of hypo- and hyperthyroidism in laboratory animals is widely used in modern experimental biology and medicine to study the pathogenetic mechanisms of the development of thyroid gland diseases, the problems of its treatment, as well as the study of the impact of the thyroid hormone imbalance on various organs and systems of the body. The most popular method of creating a model of experimental hypothyroidism is the entry of chemicals capable of blocking the function of the thyroid gland into the body of laboratory animals. The most widely used pharmacopoeial thyrostatic is mercazolil, which is used both in clinic for the treatment of thyroid gland diseases which accompanied by hyperthyroidism, as well as in practical experimental studies. Modeling of hyperthyroidism is carried out by entry thyroid hormone preparations into the body of experimental animals. **The aim** of the work was to determine the optimal doses of drugs, which are necessary to achieve stable hyperthyroid or hypothyroid states, as well as its correction in the experiment. **Methods.** The experiment was carried out on 65 sexually mature female white rats Wistar line, weighing 200-250 g. All animals were divided into 5 groups: control, hypo- and hyperthyroidism (15 animals in each group), as well as 2 groups with correction of hypothyroidism (10 animals in each group, Table 2.1). The hypothyroid state was modeled with Mercazolil (Zdorovya, Kharkiv) in a daily dose of 10 mg/kg; hyperthyroidism was induced by L-thyroxine (Farmak, Kyiv) in a daily dose of 100 µg/kg body weight of animals. In all experimental groups, mercazolil and thyroxine, in the powder form, were daily added to the food for two weeks, after which the animals were euthanized by an overdose of diethyl ether. The structure of thyroid glands was studied on histological slides stained with hematoxylin and eosin by the traditional method. **Results.** During the analysis of the micromorphology of the thyroid glands of animals treated with mercazolil, the presence of a goitrogenic reaction was established, which served as evidence of the hypothyroid state induced in this group of animals. A study of the thyroid glands of rats who received thyroxine together with mercazolil at a dose of 1.6 µg/kg of weight (the first correction group) showed that their morphology, both macro- and microscopic, didn't differ from the group that received only mercazolil, i.e. goitrogenic reaction was present. This indicates an insufficient dose of thyroxine. When using a replacement dose of thyroxine of 30 µg/kg of body weight (the second group of correction), the goitrogenic reaction did not develop - the structure of the thyroid glands corresponded to the norm. Thus, it was this dose of thyroxine that compensated for the antithyroid effect of mercazolil. When studying the structure of the thyroid glands of rats treated with thyroxine at a dose of 100 µg/kg, we found signs of their atrophic state. Thus, the macro- and micromorphology of the thyroid glands of rats in this group indicated that the used dose of thyroxine was sufficient to simulate persistent hyperthyroidism.


Key words: thyroid gland, hypothyroidism, hyperthyroidism, mercazolil, thyroxine.


Citation:


Sogomonyan YeA, Chelpanova IV, Pankevych LV, Ambarova NA. [Comparative analysis of experimental forms of hypo- and hyperthyroid conditions]. Morphologia. 2023;17(1):49-55. Ukrainian.

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2023.1.49-55>

 Sogomonyan Ye.A. 0000-0001-5339-8321

 Chelpanova I.V. 0000-0001-5215-814X

 Pankevych L.V. 0000-0001-8687-7628

 Ambarova N.A. 0000-0002-6867-6803

✉ Sogomonyanlviv@gmail.com

© Dnipro State Medical University, «Morphologia»

Вступ

Моделювання гіпо- та гіпертироїдизму в лабораторних тварин широко застосовується у сучасній експериментальній біології та медицині для вивчення патогенетичних механізмів розвитку захворювань щитоподібної залози, проблем її лікування, а також дослідження впливу дисбалансу тиреоїдних гормонів на різні органи та системи організму. В сучасних умовах використовуються наступні моделі гіпотирозидизму: 1) хірургічне видалення щитоподібної залози (тотальна або субтотальна тиреоїдектомія); 2) блокування тиреоїдної функції шляхом уведення експериментальним тваринам спеціальних хімічних речовин – так званих тиростатичних препаратів; 3) виключення функції щитоподібної залози дією великих доз радіонуклідів J^{131} [1].

Кожен із цих трьох методів має як переваги, так і недоліки. Безумовною перевагою тиреоїдектомії є отримання гіпотирозидизму в “чистому” вигляді, тоді як за умов уведення в організм тиростатичних речовин теоретично можна очікувати, крім гіпотирозидного ефекту, різних побічних впливів, які можуть слугувати причиною отримання хибних результатів [2, 3].

До недоліків цієї моделі (хірургічного видалення залози) слід віднести достатню складність процедури, значне травмування експериментальних тварин (наркоз, оперативне втручання), а також розвиток паратиропривної тетанії внаслідок видалення разом з щитоподібною прищитоподібною залозою [4]. Використання високих доз радіоїоду J^{131} для виключення функції щитоподібною залозою фактично викликає руйнацію органа, тому цей метод можна назвати радіоізотопною тиреоїдектомією. Складності цього методу є зрозумілими, враховуючи необхідність лабораторії, спеціально обладнаної для роботи з радіоактивними речовинами.

Найбільш поширеним сучасним методом створення моделі експериментального гіпотирозидизму є введення в організм лабораторних тварин хімічних речовин, здатних блокувати функцію щитоподібною залозою. Перевагами цього методу є його відносна простота, можливість одночасного отримання достатньої кількості гіпотирозидних тварин, а також можливість відновлення функції залози після відміни препарату. Недоліком моделі гіпотирозидного стану, базованій на застосуванні тиростатичних препаратів, є можливі побічні ефекти цих речовин, результатом ігнорування яких може бути хибне трактування отриманих даних. Убезпечення від цих похибок полягає у паралельному проведенні тиреоїдектомії і/або корекції гіпотирозидизму замісними дозами гормону щитоподібною залозою [2, 3, 5].

Найбільш уживаним фармакопейним тиростатиком є мерказоліл, активною речовиною якого є 1-метил-2-меркаптоїмідазол, що знижує утворення активної форми йоду та блокує йоду-

вання тирозину. Дефіцит йоду та порушення синтезу тиреоїдних гормонів призводять до зниження їх концентрації в крові тварин, внаслідок чого за механізмом зворотнього зв'язку посилюється тиротропна функція гіпофіза. Тривалий надлишок тиротропного гормону, у свою чергу, активує вивільнення цілої низки ростових факторів, які викликають посилення проліферації клітин щитоподібною залозою, результатом якого є гіперплазія залози (струмогенний ефект).

Мерказоліл застосовують як у клініці для лікування захворювань щитоподібною залозою, що супроводжуються гіпертироїдизмом, так і в практиці експериментальних досліджень [6-8].

Для отримання ефекту стійкого гіпотирозидизму в експериментах на щурах зазвичай застосовують мерказоліл у дозах від 5 до 10 мг/кг маси тварини на добу протягом 2-3 тижнів [9-13].

Моделювання гіпертироїдизму здійснюють шляхом уведення в організм піддослідних тварин препаратів тиреоїдних гормонів (трийодтиронін, L-тироксин, Тиреокс, Еутирокс 100, Тріакана). Усі зазначені препарати застосовують у клінічній практиці для замісної терапії гіпотирозидних станів [14-17]. При розрахунку дози гормонального препарату для індукції гіпертироїдизму слід враховувати його добову продукцію в нормі. Для щурів, наприклад, вона складає 30 мкг L-тироксину/кг маси тіла [3], у той час як у людини нормальна продукція Т3 складає 6 мкг/добу [18]. Таким чином, оптимальна добова доза L-тироксину для досягнення стану стійкого гіпертироїдизму у щурів за даними багатьох авторів [2, 3] становить 100-150 мкг/кг маси.

Оцінку ефективності моделювання як гіпо-, так і гіпертироїдизму проводять шляхом визначення в крові тварин рівня ТТГ, Т3, Т4. При цьому основним показником, який дозволяє оцінити адекватність моделі, є рівень ТТГ, який змінюється відповідно до ступеня зниження або зростання рівнів тиреоїдних гормонів. На змінах рівня ТТГ базується і суто морфологічний спосіб оцінки ефективності моделювання описуваних станів, а саме, шляхом вивчення макро- та мікрморфології щитоподібною залозою, наявності ознак струмогенної реакції при гіпотирозидизмі та атрофічних ознак при гіпертироїдизмі.

Мета: визначити оптимальні дози препаратів, необхідні для досягнення стійкого гіпертироїдного або гіпотирозидного станів а також корекції останнього в експериментальних щурах.

Матеріали та методи

Дослід поставлено на 65 статевозрілих самках білих щурів лінії Wistar масою 200-250 г. Усі тварини були поділені на 5 груп: контроль, гіпо- та гіпертироїдизм (по 15 тварин у групі), а також 2 групи з корекцією гіпотирозидизму (по 10 тварин у групі, табл. 2.1). Гіпотирозидний стан моделювали за допомогою мерказолілу (“Здоров’я”, Харків) у добовій дозі 10 мг/кг; гіпертироїдизм

викликали L-тироксинам (“Фармак”, Київ) у добовій дозі 100 мкг/кг маси тіла тварин.

Корекцію гіпотирозидизму проводили тироксинам у так званій фізіологічній дозі, яку вводили одночасно із мерказолілом. У першій групі з корекцією гіпотирозидизму ця доза тироксинам становила 1,6 мкг/кг маси тіла (згідно рекомендацій [18]). Як виявилось, така доза тироксинам була недостатньою для компенсації гіпотирозидизму у щурів, тому була утворена друга група з корекцією, у якій замісна доза тироксинам дорівнювала 30 мкг/кг маси тіла тварин. Згідно даних Є.С.Детюк [2], така доза відповідає добовій продукції тироксинам в щурів.

Таблиця 1
Характеристика груп тварин

Групи тварин	Число щурів
(I) Інтактні тварини (контроль)	15
(II) Щурі з модельованим гіпотирозидизмом (мерказоліл)	15
(III) Щурі з модельованим гіпертирозидизмом (тироксинам)	15
(IV) Гіпотирозидизм з корекцією тироксинам (1,6 мкг/кг)	10
(V) Гіпотирозидизм з корекцією тироксинам (30 мкг/кг)	10
Разом	65

В усіх дослідних групах мерказоліл і тироксинам у вигляді порошку додавали в їжу щоденно

протягом двох тижнів, внаслідок чого досягався стан стійкого гіпо- або гіпертирозидизму.

Тварин піддавали евтаназії передозуванням діетилового ефіру. Під час розтину у тварин забирали щитоподібні залози (з обох боків) і фіксували в суміші Буена. Після зневоднення матеріал заливали у парафін за стандартною методикою. Утримання тварин та маніпуляції з ними проводились у відповідності до положень “Загальних етичних принципів експериментів на тваринах” (Київ, 2001).

Результати та їх обговорення

Контроль ефективності моделювання гіпота гіпертирозидизму, а також корекції гіпотирозидизму, проводили шляхом вивчення макро- та мікроморфології щитоподібних залоз, враховуючи наявність “струмогенної” реакції при введенні мерказолілу, її відсутність при корекції замісними дозами тироксинам, та морфологічні ознаки зниження функції залози при введенні гіпертирозидних доз тироксинам.

Макроскопічно щитоподібні залози тварин, які знаходилися під впливом мерказолілу, були значно більших розмірів (приблизно у 3 рази), ніж у контрольній групі, з ознаками інтенсивної гіперемії (темно-червоного кольору). Мікроскопічно зміни, що виникали у щурів цієї групи зводилися до наступного: фолікули набували неправильної складчастої форми, їхні порожнини були вільні від колоїду, тирозидний епітелій, кубічний у контролі, ставав циліндричним, виявлялися гіперплазія тирозитів та різка гіперемія (рис. 1, 2).

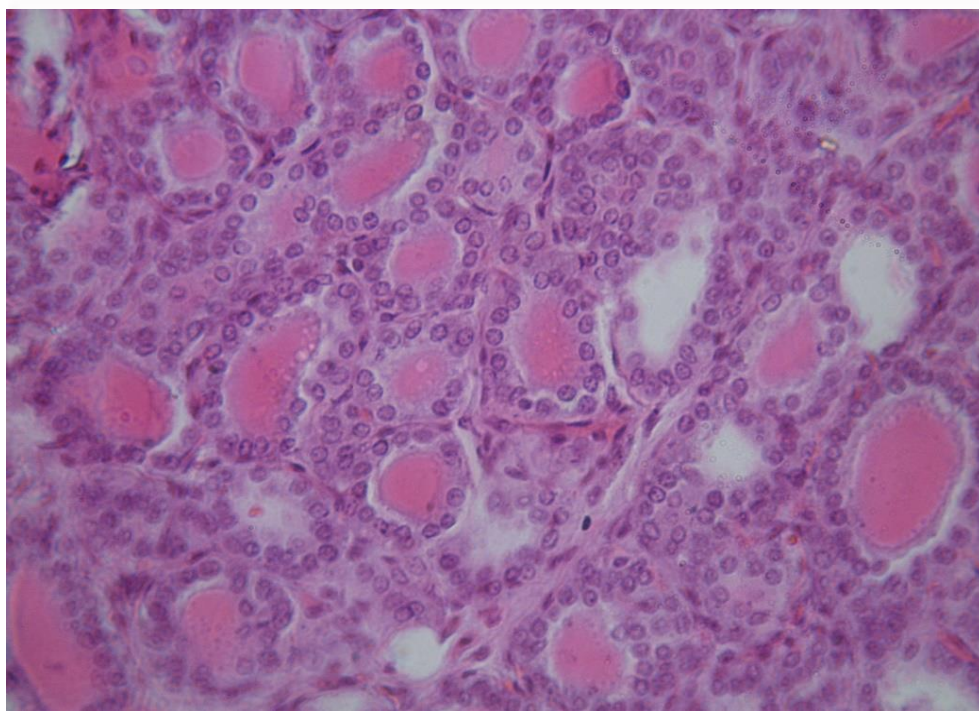


Рис. 1. Мікроморфологія нормальної щитоподібної залози щура (контроль): тирозити кубічної форми, у фолікулах помірна кількість колоїду, помітні зони резорбції. Гематоксилін і еозин. $\times 400$.

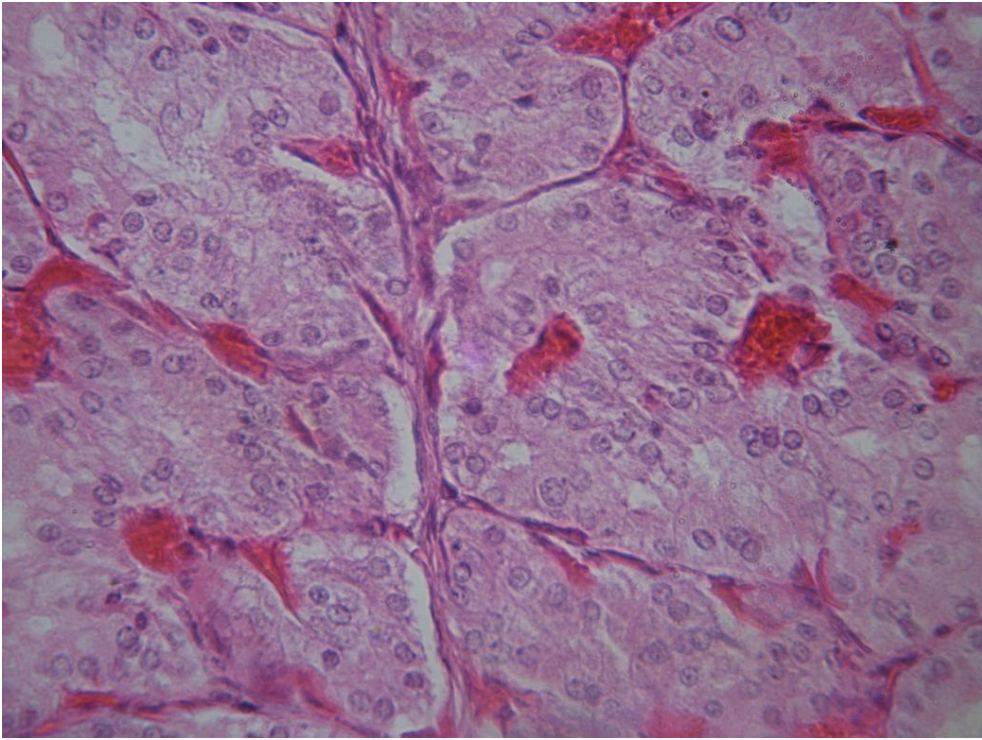


Рис. 2. Щитоподібна залоза гіпотироїдного щура: тироцити циліндричної форми, у просвіті фолікулів незначна кількість або повна відсутність колоїду. Гематоксилін і еозиню $\times 400$.

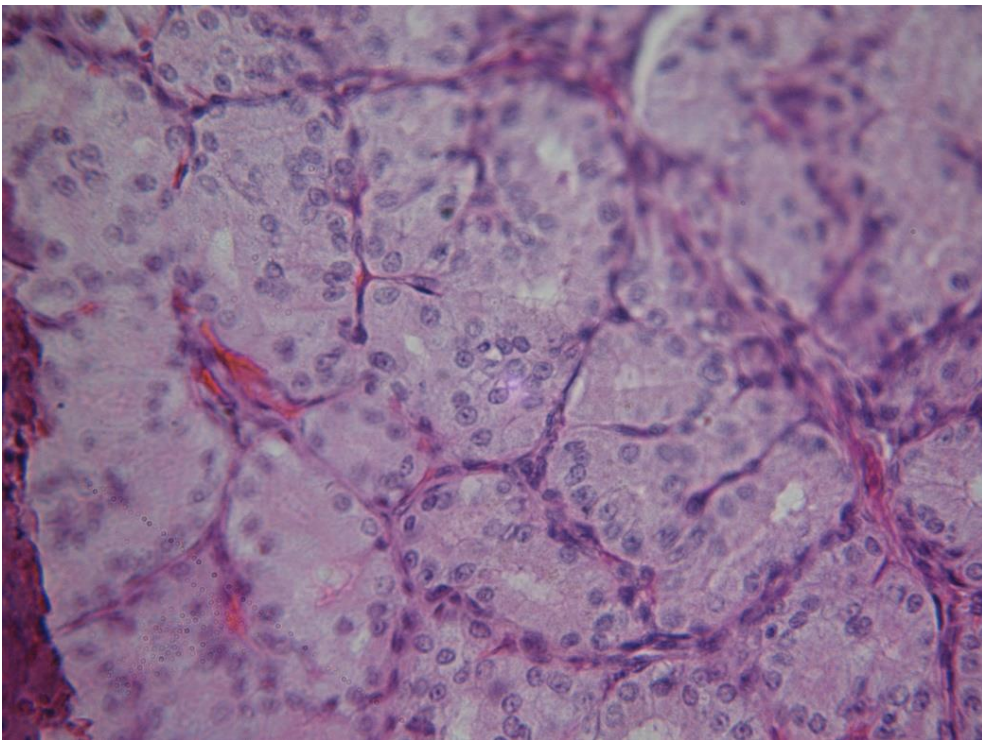


Рис. 3. Щитоподібна залоза щура, який разом із мерказолілом отримувач тироксин у дозі 1,6 мг/кг (перша група корекції): виражена струмогенна реакція. Гематоксилін і еозин. $\times 400$.

Усі вищеописані явища вкладалися в картину відомої струмогенної реакції, яка пов'язана з підвищенням рівня ТТГ гіпофіза за умов зни-

ження рівня тироксину в крові, блокованого мерказолілом. Наявність струмогенної реакції слугувала доказом гіпотироїдного стану, індукова-

ного у цій групі тварин.

Дослідження щитоподібних залоз шурів, яким разом із мерказолілом вводили тироксин у дозі 1,6 мкг/кг маси (перша група корекції), показало, що їх морфологія, як макро-, так і мікроскопічна, не відрізнялася від групи, що отримувала лише мерказоліл, тобто була наявною струмогенна реакція (рис. 3). Це було свідченням

недостатньої дози тироксину. При використанні замісної дози тироксину 30 мкг/кг маси тіла (друга група корекції) струмогенна реакція не розвивалася – будова щитоподібних залоз відповідала нормі (рис. 4). Таким чином, саме ця доза тироксину компенсувала антитироїдну дію мерказолілу.

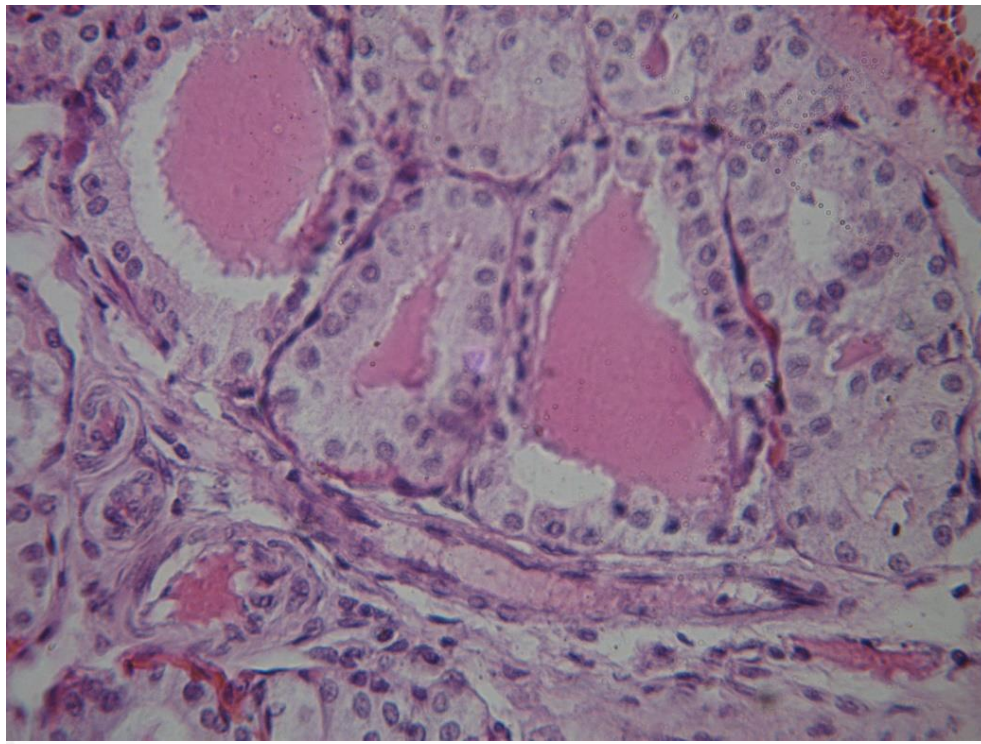


Рис. 4. Щитоподібна залоза щура, який разом із мерказолілом отримував тироксин у дозі 30 мкг/кг (друга група корекції): мікроморфологія фолікулів наближена до контрольних показників. Гематоксилін і еозином $\times 400$.

Будова щитоподібних залоз шурів, які отримували тироксин у дозах 100 мкг/кг маси тіла свідчила про їхній загальмований стан. Макроскопічно залози були менших розмірів у порівнянні з контролем, бліді, атрофовані. Мікроскопічно виявлялися великі фолікули зі щільним колоїдом та низькими тироцитами (рис. 5).

Таким чином, були отримані всі ознаки того, що в організмі тварин, які отримували тироксин, у результаті підвищення рівня тироїдних гормонів гальмувалася секреція ТТГ гіпофіза, а як наслідок, і функція щитоподібної залози. Отже, макро- та мікроморфологія щитоподібних залоз шурів цієї групи свідчили, що використана доза тироксину була достатньою для моделювання стійкого гіпертироїдизму.

Висновки

1. Оптимальною добовою дозою мерказоліла для досягнення стійкого гіпотироїдного стану впродовж двох тижнів в експериментальних шурів є доза у 10 мг/кг маси.

2. Добова доза тироксину в 1,6 мкг/кг маси тіла є недостатньою для компенсації гіпотироїдного стану в експериментальних шурів.

3. Оптимальною добовою дозою тироксину для корекції гіпотироїдного стану, викликаного мерказолілом, є 30 мкг/кг маси тіла експериментального щура.

4. Для моделювання стійкого гіпертироїдного стану в експериментальних шурів достатньою добовою дозою тироксину є 100 мкг/кг маси тіла тварини.

Перспективи подальших розробок пов'язані з вивченням структурних змін щитоподібної залози для визначення доз препаратів, необхідних для досягнення стійкого гіпертироїдного або гіпотироїдного станів.

Інформація про конфлікт інтересів

Потенційних або явних конфліктів інтересів, що пов'язані з цим рукописом, на момент публікації не існує та не передбачається.

Джерела фінансування

Дослідження виконано в рамках науково-дослідної теми «Морфофункціональні та імуністохімічні особливості тканин і органів в нормі та при патологічних станах» (номер державної реєстрації 0132U000168).

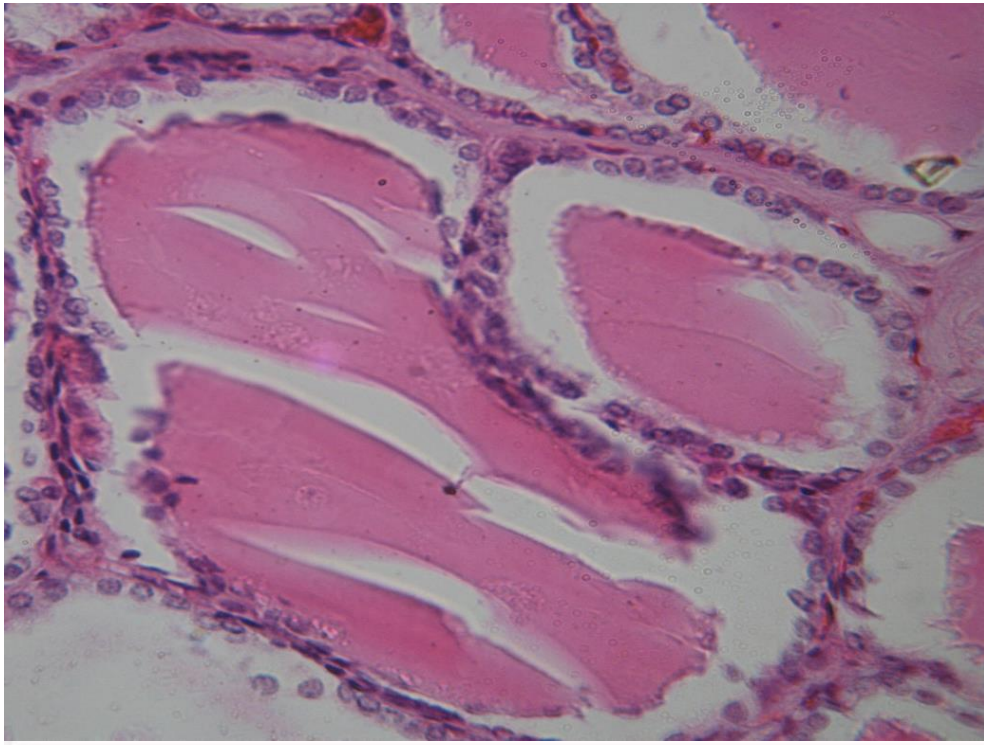


Рис. 5. Щитоподібна залоза щура з модельованим гіпертироїдизмом: тироцити плоскої форми, фолікули надмір розтягнуті щільним нерезорбованим колоїдом. Гематоксилін і еозиню ×400.

Літературні джерела References

1. Boiko NV, Krivtsova MV, Fabri ZJ. [The use of a biological preparation from bacilli for the correction of the immune response and functional disorders of the thyroid status of the body under conditions of experimental hypothyroidism]. *Endokrynolohiya*. 2004;9(2):243-248. Ukrainian.
2. Detyuk ES. [Perinatal period of ontogenesis in case of experimental dysfunction of the thyroid gland in the mother]. *Arkhiv anatomii, gistologii i embriologii*. 1976;76(11):100-104. Russian.
3. Ivanova AI. [Decidual reaction in experimental hypo- and hyperthyroidism]. *Uzbekskiy biologicheskii zhurnal*. 1965;5:39-44. Russian.
4. Eskin IA. [Fundamentals of the physiology of the endocrine glands]. Moskva: Vyschaya shkola; 1975. 304 p. Russian.
5. Myshunina TM, Bohdanova TI, Kalinichenko OV, Pil'kevych LI. [Characteristics of experimental models of goiter in rats]. *Endokrynolohiya*. 2005;10(2):194-200. Ukrainian.
6. Pan'kiv VI. [Prevalence of thyroid pathology in iodine-deficient areas of western Ukraine]. *Endokrynolohiya*. 2006;11(1):134-137. Ukrainian.
7. Bondarenko LO, Hubina-Vakulyk HI, Chagovets' OM, Gargin VV, inventors; Institute of Problems of Endocrine Pathology Academy of Medical Sciences of Ukraine, assignee. Method of modeling experimental hypothyroidism. Ukrainian patent UA 63695. 2004 jan 15. Int. cl 7GO9B23/28A . Ukrainian.
8. Ukrayinets' IV, Dmytriyevs'kyi DI, Kravchenko VM, Voronina LM, inventors; National Pharmaceutical University, assignee. Means for the treatment of diseases associated with hyperfunction of the thyroid gland. Ukrainian patent UA 65914. 2004 apr 15 Int. cl 7A61K31/47, A61K9/20. Ukrainian.
9. Jazaerly MS, Davydov VV. [Age-related features of the action of Mercazolil on free radical processes in the liver]. *Problemy endokrynnoi patolohiyi*. 2006;3:29-33. Ukrainian.
10. Luksha LS, Bagel' IM, Lobanok LM. [Contractile and endothelium-dependent dilatory reactions of the aorta in hyperthyroidism]. *Problemy endokrinologii*. 2000;6:38-41. Russian.
11. Nadol'nik LI, Yemel'yanov NV, Paster IP, Vinogradov VV. [Corticosteroid-binding globulin in experimental hypothyroidism in male and female rats]. *Problemy endokrinologii*. 2000;5:35-39. Russian.
12. Hzhchots'kyi MR, Chupashko OI, Terlets'ka OI. [Experimental hypothyroidism and features of oxidative metabolism in blood and myocardial tissue of rats]. *Bukovyns'kyi medychny visnyk*. 2003;7(1):25-27. Ukrainian.
13. Sato E, Jiang JP. Follicular development and

ovulation in hypothyroid rdw rats . Ital.J.Anat.Embyol. 2001;106(2):249-256.

14. Cheren'ko MP, Ihnatovs'kyu YuV, Antoniv VR, Cheren'ko SM. [About the dynamics and treatment of patients with thyroid disease in the Kyiv region after the explosion at the Chernobyl nuclear power plant]. In: [Radiobiological congress of Ukraine; 1995 may 21-25; Dnipropetrovs'k – Kyiv, Ukraine]. Nauka; 1995. p. 35-37. Ukrainian.

15. Glinoe D, De Nayer P, Bourdoux P. Regulation of maternal thyroid during pregnancy. J.Clin.Endocrinol.Metab. 1990;71:276-287.

16. Jiang JY, Miyabayashi K, Nottola SA, Umezu M. Thyroxine treatment stimulated ovarian

follicular angiogenesis in immature hypothyroid rats. Histol.Histopathol. 2008;23(11):1387-1398.

17. Stechenko LO, Kuftyreva TP, Kuzyan VR, Motulyak AP, Lavrynenko DO. [Morphological aspects of the course of the luteal phase of the ovarian cycle of rats with postoperative hypothyroidism and under the conditions of its pharmacological correction]. Visnyk morfolohiyi. 2008; 14(1):193-198. Ukrainian.

18. Morgunova TB, Fadeyev VV. [Thyroid hormone replacement therapy for hypothyroidism - one hormone or two?]. Problemy endokrinologii. 2005;1:53-56. Russian.

Согомонян С.А., Челпанова І.В., Панкевич Л.В., Амбарова Н.О. Порівняльний аналіз експериментальних форм гіпо- та гіпертироїдних станів.

РЕФЕРАТ. Актуальність. Моделювання гіпо- та гіпертироїдизму в лабораторних тварин широко застосовується у сучасній експериментальній біології та медицині для вивчення патогенетичних механізмів розвитку захворювань щитоподібної залози, проблем її лікування, а також дослідження впливу дисбалансу тироїдних гормонів на різні органи та системи організму. Найбільш поширеним сучасним методом створення моделі експериментального гіпотироїдизму є введення в організм лабораторних тварин хімічних речовин, здатних блокувати функцію щитоподібної залози. Найбільш уживаним фармакопейним тиростатиком є мерказоліл, який застосовують як у клініці для лікування захворювань щитоподібної залози, що супроводжуються гіпертироїдизмом, так і в практиці експериментальних досліджень. Моделювання гіпертироїдизму здійснюють шляхом введення в організм піддослідних тварин препаратів тироїдних гормонів. **Мета** роботи - визначення оптимальних доз препаратів, необхідних для досягнення стійкого гіпертироїдного або гіпотироїдного станів а також корекції останнього в експериментальних щурів. **Методи.** Дослід поставлено на 65 статевозрілих самках білих щурів лінії Wistar масою 200-250 г. Усі тварини були поділені на 5 груп: контроль, гіпо- та гіпертироїдизм (по 15 тварин у групі), а також 2 групи з корекцією гіпотироїдизму (по 10 тварин у групі, табл. 2.1). Гіпотироїдний стан моделювали за допомогою мерказолілу ("Здоров'я", Харків) у добовій дозі 10 мг/кг; гіпертироїдизм викликали L-тироксином ("Фармак", Київ) у добовій дозі 100 мкг/кг маси тіла тварин. В усіх дослідних групах мерказоліл і тироксин у вигляді порошку додавали в їжу щоденно протягом двох тижнів, після чого тварин піддавали евтаназії передозуванням діетилового ефіру. Структуру щитоподібних залоз вивчали на гістологічних препаратах, забарвлених гематоксиліном та еозином традиційним методом. **Результати та висновки.** Під час аналізу мікрморфології щитоподібних залоз тварин, що отримували мерказоліл, була встановлена наявність струмогенної реакції слугувала доказом гіпотироїдного стану, індукованого у цій групі тварин. Дослідження щитоподібних залоз щурів, яким разом із мерказолілом вводили тироксин у дозі 1,6 мкг/кг маси (перша група корекції), показало, що їх морфологія, як макро-, так і мікроскопічна, не відрізнялася від групи, що отримувала лише мерказоліл, тобто була наявною струмогенна реакція. Це було свідченням недостатньої дози тироксину. При використанні замісної дози тироксину 30 мкг/кг маси тіла (друга група корекції) струмогенна реакція не розвивалася – будова щитоподібних залоз відповідала нормі. Таким чином, саме ця доза тироксину компенсувала антигіроїдну дію мерказолілу. При дослідженні будови щитоподібних залоз щурів, які отримували тироксин у дозах 100 мкг/кг, були отримані ознаки їх атрофічного стану. Таким чином, макро- та мікрморфологія щитоподібних залоз щурів цієї групи свідчили, що використана доза тироксину була достатньою для моделювання стійкого гіпертироїдизму.

Ключові слова: щитоподібна залоза, гіпотироїдизм, гіпертироїдизм, мерказоліл, тироксин.