

## УЛЬТРАСТРУКТУРНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ КРЫС ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ ЭКЗОГЕННОЙ ХРОНИЧЕСКОЙ ГИПЕРТЕРМИИ СРЕДНЕЙ СТЕПЕНИ

Рыкова Ю.А., Вовк О.Ю.

*Харьковский национальный медицинский университет, Украина*

Неблагоприятное воздействие высоких температур сопровождается человека как в жарких климатических условиях, так и в процессе трудоемкости: на металлургических предприятиях, в горячих цехах, в горнорудной, стекольной, пищевой, химической и машиностроительной промышленности; в авиации, флоте и во многих других видах деятельности, где высокая температура превышает 40-60°, являясь неблагоприятным фактором в производственной деятельности человека. Перегревание вызывает длительные структурно-функциональные изменения в организме, которые способствуют развитию деструктивных процессов [5,7]. Именно щитовидная железа, в условиях экзогенной гипертермии является одной из основных желез эндокринной системы организма, которая наиболее тонко и чувствительно реагирует на изменения среды. Щитовидная железа представляет собой фрагмент единой биологической эндокринной системы. И, тем не менее, её инкреторные функции способны оказывать выраженное влияние практически на все виды обмена веществ в организме, приспосабливая его к условиям внешней среды и тем самым, обеспечивая его жизнедеятельность [11-16].

В связи с неблагоприятной экологической ситуацией в Украине наблюдается рост функциональных нарушений щитовидной железы. Для определения морфофункциональных изменений в щитовидной железе орган следует рассматривать как многоступенчатую систему, элементы которой находятся в тесной взаимосвязи между собой. В литературных источниках недостаточно внимания уделяется ультраструктурным исследованиям щитовидной железы под воздействием длительного перегрева [8-10].

Целью исследования явилось определение особенности ультраструктурного строения щитовидной железы крыс при воздействии экзогенной хронической гипертермии.

**Материал и методы.** Исследование проводилось на 60 линейных лабораторных половозрелых белых крысах-самцах линии Вистар с исходной массой 180-230 г. (в возрасте 10-12 недель) полученных из вивария Луганского государственного медицинского университета. Во время эксперимента лабораторные животные содержались в соответствии с правилами, принятыми Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для эксперимента и в научных целях (Страсбург, 1986 г.) [6], в соответствии с принципами Хельсинкской декларации, принятой Генеральной ассамблеей Всемирной медицинской ассоциации (1964-2000 гг.), «Общими этическими принципами экспериментов над животными», утверждёнными I Национальным конгрессом по биоэтике (Киев 2001) [3]. Комиссией по этическим вопросам ГЗ «Луганский государственный медицинский университет» (протокол № 5 от 10.05.2011). Содержание животных и проводимые с ними манипуляции соответствуют требованиям Закона Украины № 3447-IV от 21.02.06 г.

Экзогенная гипертермия создавалась при помощи термической камеры, сконструированной сотрудниками кафедры анестезиологии и реаниматологии Луганского государственного медицинского университета (авторское свидетельство №1452526 А1 на изобретение «Тепловая токсикологическая камера»). Камера усовершенствована сотрудниками кафедры анатомии человека Овчаренко В.В. и Бирик Е.Ю. «Климатическая камера с телеконтролем и телеуправлением» [1].

Животные подразделены на 2 группы: I группу составили контрольные (интактные) крысы, которые находились в термокамере в течение 5 часов при температуре 21°C, II группу - животные, подвергшиеся хронической гипертермии средней тяжести (42,0-43,1°C). Гипертермию моделировали с 8 часов утра до 13.00 (по 5 часов ежедневно) на протяжении 60 дней. После сеансов шестидневной гипертермии на 1, 7, 15 сутки реадaptации животных выводили из эксперимента декапитацией под эфирным наркозом [2].

Для электронно-микроскопического исследования кусочки щитовидной железы размером 1 мм<sup>3</sup> фиксировали в 2,5% растворе глутаральдегида на 0,1 М фосфатном буфере pH 7,2, а затем в 1% растворе OsO<sub>4</sub> по Pallade. После дегидратации в растворах этанола нарастающей концентрации и абсолютном ацетоне материал заливали в смесь эпоксидных смол эпон-аралдит. На ультрамикротоме УМТП-4 Сумского ПО «Электрон» (Украина) изготавливали полутонкие срезы толщиной 1-2 мкм и окрашивали метиленовым синим. Сначала изучали срезы на светооптическом уровне, а затем после прицельной заточки блока получали ультратонкие срезы, которые контрастировали уранилацетатом и цитратом свинца по Рейнольдсу. Препараты просматривали под электронным микроскопом ЭМ-125 того же ПО при ускоряющем напряжении 75кВ. Изученный материал документировали в виде негативных и позитивных фотоотпечатков.

**Результаты и их обсуждение.** При электронно-микроскопическом исследовании выявлены выраженные ультраструктурные изменения щитовидной железы. У подопытных животных, фолликулы выстланы, в основном, низкопризматическими тироцитами. Встречаются как темные деформированные фолликулярные клетки с разрушенными органеллами, так и функционирующие с темным, но крупным ядром, небольшим количеством органелл в цитоплазме и микроворсинок на апикальной поверхности мембраны. На 1 сутки реадaptации тироциты были преимущественно «ажурной» формы, с темными ядрами, чаще неправильной формы. На их апикальной мембране уменьшено количество микроворсинок. Базальная мембрана лишена складчатости. В коллоиде определяется десквамированный эпителий. Расширены полости гранулярной эндоплазматической сети. Встречается небольшое количество секреторных гранул, а также лизосомоподобные тельца (рис. 1).

В межфолликулярных пространствах находятся отёкшие сосуды с эритроцитами и эндотелиоцитами. Увеличенное количество коллагеновых волокон, встречаются тканевые базофилы (рис. 2).

На 7 сутки реадaptации встречаются неактивные тироциты с темными, пикнотическими ядрами, расширенными цистернами гранулярной эндоплазматической сети, небольшим количеством митохондрий (рис. 3). На апикальной мембране единичные микроворсинки. Встречаются интерфолликулярные островки со светлыми ядрами неправильной формы. В цитоплазме определяется гранулярная эндоплазматическая сеть, слабо выраженный комплекс Гольджи, секреторные гранулы, небольшое количество митохондрий и множество фаголизосом (рис. 4).

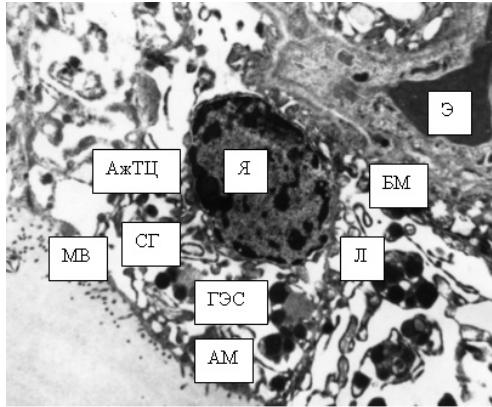


Рис. 1. Ультраструктура щитовидной железы половозрелой крысы под воздействием хронической гипертермии средней степени ( $42,0^{\circ}\text{--}43,1^{\circ}\text{C}$ ) на первые сутки реадaptации. «Ажурный» тироцит. Я-ядро, ГЭС-гранулярная эндоплазматическая сеть, АМ-апикальная мембрана, МВ-микроворсинки, СГ-секреторные гранулы, Л-лизосомоподобные тельца, БМ-базальная мембрана, Э-эритроцит.  $\times 8000$

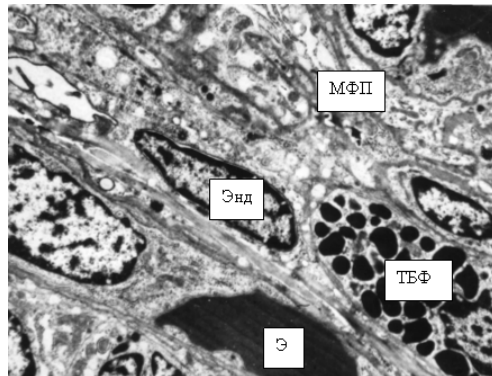


Рис. 2. Ультраструктура щитовидной железы половозрелой крысы под воздействием хронической гипертермии средней степени ( $42,0^{\circ}\text{--}43,1^{\circ}\text{C}$ ) на первые сутки реадaptации. Межфолликулярное пространство с тучной клеткой.

МФП-межфолликулярное пространство, ТБФ-тканевой базофил, Энд-эндотелиоцит, Э-эритроцит.  $\times 8000$

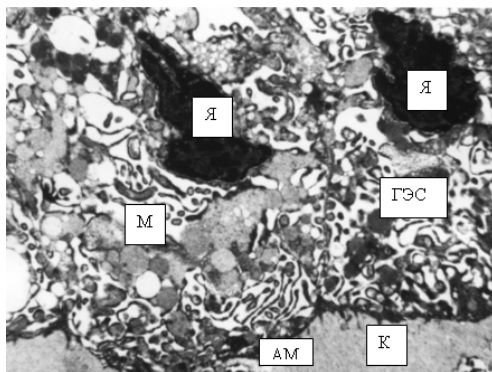


Рис. 3. Ультраструктура щитовидной железы половозрелой крысы под воздействием хронической гипертермии средней степени ( $42,0^{\circ}\text{--}43,1^{\circ}\text{C}$ ) на седьмые сутки реадaptации. Я-ядро, М-митохондрия, ГЭС-гранулярная эндоплазматическая сеть, АМ-апикальная мембрана, К-коллоид.  $\times 8000$

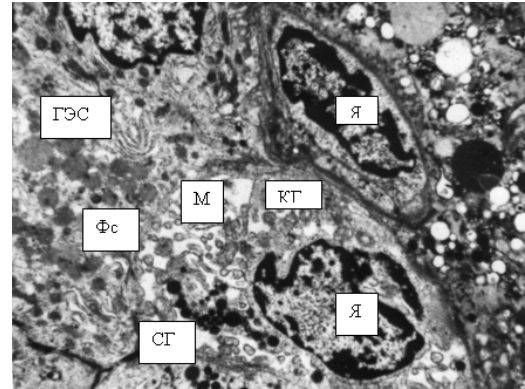


Рис. 4. Ультраструктура щитовидной железы половозрелой крысы под воздействием хронической гипертермии средней степени ( $42,0^{\circ}\text{--}43,1^{\circ}\text{C}$ ) на седьмые сутки реадaptации. Интерфолликулярный островок. Я-ядро, КГ-комплекс Гольджи, М-митохондрия, ГЭС-гранулярная эндоплазматическая сеть, Фс-фаголизосома.  $\times 8000$

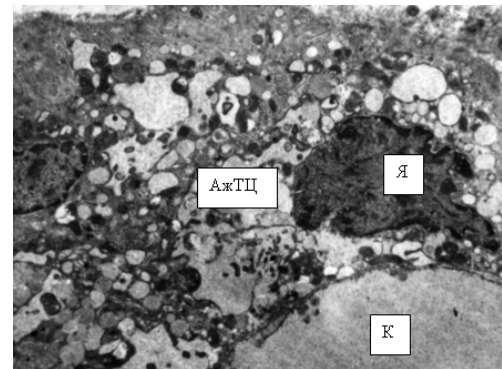


Рис. 5. Ультраструктура щитовидной железы половозрелой крысы под воздействием хронической гипертермии средней степени ( $42,0^{\circ}\text{--}43,1^{\circ}\text{C}$ ) на пятнадцатые сутки реадaptации. «Ажурный» тироцит. Я-ядро, К-коллоид.  $\times 8000$

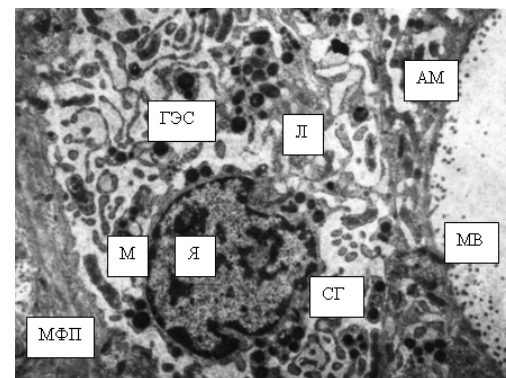


Рис. 6. Ультраструктура щитовидной железы половозрелой крысы под воздействием хронической гипертермии средней степени ( $42,0^{\circ}\text{--}43,1^{\circ}\text{C}$ ) на пятнадцатые сутки реадaptации. МФП-межфолликулярное пространство, Я-ядро, М-митохондрия, АМ-апикальная мембрана, МВ-микроворсинки, Л-лизосомы, ГЭС-гранулярная эндоплазматическая сеть.  $\times 8000$

На 15 сутки реадaptации наблюдаются как «ажурные» тироциты с пикнотическими ядрами, в которых невозможно



различить органеллы, так и тироциты круглой формы, но темными ядрами, расширенной гранулярной эндоплазматической сетью, малым количеством микроворсинок на апикальной мембране, слабо выраженным комплексом Гольджи, большим количеством секреторных гранул. Реже встречаются тироциты со светлыми, круглыми ядрами с нормальным количеством микроворсинок на апикальной мембране, с расширенной гранулярной эндоплазматической сетью (рис. 5, 6). В цитоплазме также наблюдаются митохондрии, лизосомы и большое количество секреторных гранул. Встречаются С-клетки со светлым ядром круглой формы, с единичными лизосомами и большим количеством секреторных гранул (рис. 7).

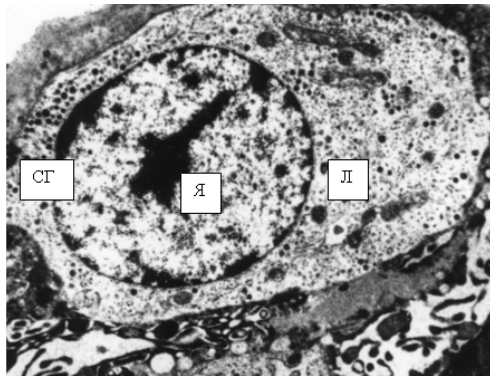


Рис. 7. Ультраструктура щитовидной железы половозрелой крысы под воздействием хронической гипертермии средней степени ( $42,0^{\circ}$ - $43,1^{\circ}$ C) на пятнадцатые сутки реадaptации. Я-ядро, СГ-секреторные гранулы, Л-лизосомы.  $\times 8000$

#### Выводы:

Таким образом, выявленные в результате проведенного исследования ультраструктурные изменения, в частности большое количество «ажурных» тироцитов, темные ядра, уменьшенное количество микроворсинок на апикальной мембране, отсутствие складчатости базальной мембраны, расширенные полости гранулярной эндоплазматической сети, деформированные органеллы, наличие в межфолликулярных пространствах отёкших сосудов с эритроцитами и эндотелиоцитами указывают на понижение функции тироцитов.

Результаты проведенного исследования диктуют необходимость определения уровня трийодтиронина и тироксина в плазме крови подопытных и контрольных групп животных методом твердофазного иммуноферментного анализа, являющегося одним из самых надежных и удобных скрининговых тестов для выявления нарушений функционирования щитовидной железы.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Бибик О.Ю., Овчаренко В.В. Нова модель кліматичної камери з телеспостереженням та телеуправлінням. Реєстр галузевих нововведень 2008; 126-127.
2. Каширина Н.К. Методика идентификации и выделения органов эндокринной секреции у мышей. Бюллетень эксперим. биологии и медицины 1987; 103, №5: 630-631.
3. Общие этические принципы экспериментов на животных: мат. I Национального конгресса по биоэтике. – К.: НАНУ 2001; 16.
4. Bun T, Keiji H, Narihiko K. Characteristics of hyperthermia-induced hyperventilation in humans. Temperature 2016; 3: 146-160.
5. Edward J.W, Carraretto M. The neurological and cognitive

- consequences of hyperthermia. Critical Care 2016; № 20: 1-8.
6. European Convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purpose: Council of Europe 18.03.1986. – Strasbourg 1986; 52.
7. Sun G, Qian S, Jiang. Hyperthermia-induced disruption of functional connectivity in the human brain network. PLoS One 2013; 8(4): 1157.
8. Lucas R, Ainslie P, Fan J. Skin cooling aids cerebrovascular function more effectively under severe than moderate heat stress. Eur. J. Appl. Physiol. 2010; 109: 101-185.
9. Poirier M, Gagnon B. Friesen Whole-body heat exchange during heat acclimation and its decay. Med Sci Sports Exerc 2015; 47:390-400.
10. Robert C. Smallridge. Metabolic, Physiologic, and Clinical Indexes of Thyroid Function. Section B. Miscellaneous Tests: Werner and Ingbar's The Thyroid, Seventh Edition. Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia, 1996; 397-4.
11. Duntas LH, Brenta G. The effect of thyroid disorders on lipid levels and metabolism. Med Clin North Am. 2012;96:269-281.
12. Bahn RS, Burch HB, Cooper DS, Garber JR, Greenlee MC, Klein I, Laurberg P, McDougall IR, Montori VM, Rivkees SA, Ross DS, Sosa JA, Stan MN. Hyperthyroidism and other causes of thyrotoxicosis: management guidelines of the American Thyroid Association and American Association of Clinical Endocrinologists. Endocr Pract. 2011;17:456-520.
13. Kahaly GJ, Bartalena L, Hegedus L. The American Thyroid Association/American Association of Clinical Endocrinologists guidelines for hyperthyroidism and other causes of thyrotoxicosis: a European perspective. Thyroid. 2011;21:585-591.
14. Lopez M, Varela L, Vazquez MJ, Rodriguez-Cuenca S, Gonzalez CR, Velagapudi VR, Morgan DA, Schoenmakers E, Agassandian K, Lage R, Martinez de Morentin PB, Tovar S, Nogueiras R, Carling D, Lelliott C, Gallego R, Oresic M, Chatterjee K, Saha AK, Rahmouni K, Dieguez C, Vidal-Puig A. Hypothalamic AMPK and fatty acid metabolism mediate thyroid regulation of energy balance. Nat Med. 2010;16:1001-1008.
15. Chidakel A, Mentuccia D, Celi FS. Peripheral metabolism of thyroid hormone and glucose homeostasis. Thyroid 15: 899-903, 2005
16. Adams AC, Astapova I, Fisher FM, Badman MK, Kurgansky KE, Flier JS, Hollenberg AN, Maratos-Flier E. Thyroid hormone regulates hepatic expression of fibroblast growth factor 21 in a PPARalpha-dependent manner. J Biol Chem 285: 14078-14082, 2010.

#### SUMMARY

#### ULTRA STRUCTURAL CHARACTERISTIC OF THYROID GLAND IN RATS EXPOSED TO EXOGENOUS CHRONIC HYPERTHERMIA OF MEDIUM DEGREE

Rykova Yu., Vovk O.

Kharkiv National Medical University, Ukraine

The unfavorable effect of high temperature accompanies people in both - natural hot climatic conditions and in condition of work. Overheating causes long structural and functional changes in the body, which contribute to the development of destructive processes. In this regard, we have investigated the ultra structural characteristic of the thyroid gland under the influence of prolonged overheating. The study was carried out on 60 Wistar's rats with an average weight of 180-230 g (10-12 weeks). Exogenous hyperthermia was created with the help of a thermal chamber. The I group consists of control rats, which were also

kept in a thermal chamber for 5 hours at a temperature of 21° C, II group - animals exposed to chronic hyperthermia of moderate severity (42.0-43.1°C). Hyperthermia was simulated between 8 am and 1 pm (5 hours a day) during 60 days.

After sessions of sixty-day hypertemia on days 1, 7, 15 the rehabilitation of animals was removed from the experiment by decapitation under ether anesthesia.

Thus, investigating ultra structural changes, specifically: a large number of “openwork” thyrocytes, dark nuclei, a reduced

number of microvilli on the apical membrane, a lack of folding of the basal membrane, dilated cavities of the granular endoplasmic reticulum, deformed organelles, presence of interstitial vesicles with erythrocytes and interfollicular spaces endothelocytes, it can be concluded that the function of thyrocytes has changed in the direction of decrease.

**Keywords:** thyroid gland, ultra structural characteristic, chronic hyperthermia, rats.

## РЕЗЮМЕ

### УЛЬТРАСТРУКТУРНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ КРЫС ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ ЭКЗОГЕННОЙ ХРОНИЧЕСКОЙ ГИПЕРТЕРМИИ СРЕДНЕЙ СТЕПЕНИ

Рыкова Ю.А., Вовк О.Ю.

*Харьковский национальный медицинский университет, Украина*

Целью исследования явилось определение ультраструктурной характеристики щитовидной железы под воздействием длительного перегревания.

Исследование проводилось на 60 линейных лабораторных половозрелых белых крысах-самцах линии Вистар с исходной массой 180-230 г. 10-12 недель. Экзогенная гипертермия создавалась при помощи термической камеры. I группу составили контрольные крысы, которые находились в термокамере в течение 5 часов при температуре 21°С, II группу - животные, подвергшиеся хронической гипертермии средней тяжести (42,0-43,1°С). Гипертермию моделировали с 8 часов утра до 13.00 (по 5 часов ежедневно) на протяжении 60 дней.

После сеансов шестидесятидневной гипертермии на 1, 7, 15 сутки реадaptации животных выводили из эксперимента декапитацией под эфирным наркозом.

Таким образом, выявленные в результате проведенного исследования ультраструктурные изменения, в частности большое количество «ажурных» тироцитов, темные ядра, уменьшенное количество микроворсинок на апикальной мембране, отсутствие складчатости базальной мембраны, расширенные полости гранулярной эндоплазматической сети, деформированные органеллы, наличие в межфолликулярных пространствах отёкших сосудов с эритроцитами и эндотелиоцитами указывают на понижение функции тироцитов.

## რეზიუმე

საშუალო ხარისხის ეგზოგენური ქრონიკული ჰიპერთერმიის ზემოქმედების ქვეშ მყოფი ვირთაგვების ფარისებრი ჯირკვლის ულტრასტრუქტურული მახასიათებლები

ო. რიკოვა, ო. ვოვკი

ხარკოვის ეროვნული სამედიცინო უნივერსიტეტი, უკრაინა

კვლევის მიზანს წარმოადგენდა ფარისებრი ჯირკვლის ულტრასტრუქტურული მახასიათებლების განსაზღვრა ხანგრძლივი გადახურების ზემოქმედების ქვეშ.

კვლევა ჩატარდა 60 ხაზოვან ლაბორატორიულ ზრდასრულ (10-12 კვირის ასაკის), 180-230 გრამი მასის Wistar-ის ჯიშის მამრ ვირთაგვაზე. ეგზოგენური ჰიპერთერმია იქმნებოდა თერმული კამერის საშუალებით. I ჯგუფი შეადგინა საკონტროლო ვირთაგვებმა, რომელნიც თერმოკამერაში 5 საათის განმავლობაში იმყოფებოდნენ 21°С-ზე, ხოლო II ჯგუფი – ცხოველებმა ქრონიკული საშუალო ხარისხის ჰიპერთერმიის ზემოქმედების ქვეშ (42,0-43,1°С). ჰიპერთერმიის მოდელირება ხდებოდა დღის 8 საათიდან 13 საათამდე (5 საათი ყოველდღიურად) 60 დღის განმავლობაში.

60-დღიანი ჰიპერთერმიის სეანსების შემდეგ რეადაპტაციის პირველ, მე-7 და მე-15 დღე-ღამეს ცხოველები ექსპერიმენტიდან გამოჰყავდათ დეკაპიტაციით ეთერის ნარკოზის ქვეშ.

დადგენილი ულტრასტრუქტურული ცვლილებები, კერძოდ - “ორნამენტული” თიროციტების დიდი რაოდენობა, მუქი ბირთვები, მიკროხაოების შემცირებული რაოდენობა აპიკალურ მემბრანაზე, ნაკვეცების არარსებობა ბაზალურ მემბრანაზე, ვრანულური ენდოპლაზმური ბადის ღრუს გაფართოება, დეფორმირებული ორგანოლები, შეშუპებული სისხლძარღვების ფოლიკულთაშორისი სივრცეების არსებობა ერთროციტებთან და ენდოთელიოციტებთან – იძლევა საფუძველს დასკვნისათვის თიროციტების ფუნქციის დაქვეითების შესახებ.