

УДК 616.441-008.64:582.272:615.25

В. М. КРАВЧЕНКО, Ю. Б. ЛАР'ЯНОВСЬКА, В. О. ОРЛОВА, О.А. ЩЕРБАК,
О. В. ПАВИЧЕНКО, І. М. ВЛАДИМИРОВА*Національний фармацевтичний університет*

ВПЛИВ ЕКСТРАКТУ ЛАМІНАРІЇ НА МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН ЩИТОПОДІБНОЇ ЗАЛОЗИ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ГІПОТИРЕОЗИ

Введення мерказолілу щурам приводить до змін морфологічної картини щитоподібної залози, що супроводжується проявами гіперпластичної проліферації тканини та відповідає гіпофункціональному стану. Морфометричні показники також підтверджують прояв гіпофункції. Введення досліджуваного екстракту ламінарії чинить позитивний вплив на структурну перебудову щитоподібної залози у щурів з мерказоліловим гіпотиреозом, підвищуючи її функціональну активність. Спостерігається виразне послаблення ознак зобогенного ефекту мерказолілу, про що свідчить зниження проліферативних процесів з боку екстрафолікулярного епітелію та тироцитів у фолікулах. Зовнішній діаметр та висота фолікулярних тироцитів зменшуються порівняно з контрольною патологією. Препарат порівняння йодомарин виявляв за силою та направленістю ефект, подібний такому в екстракту ламінарії.

Ключові слова: водний екстракт ламінарії; щитоподібна залоза; гіпотиреоз; морфологія; морфометрія

ВСТУП

Щитоподібна залоза (ЩЗ) – один з найважливіших ланцюгів у координації метаболічних процесів, які обумовлюють фізіологічні реакції організму. Вона володіє високою реактивністю до екзо- та ендогенних факторів, а також виразною адаптогенною здатністю разом з центральною нервовою системою та іншими ендокринними залозами.

У зв'язку з цим виявлення закономірностей і видових особливостей будови ЩЗ, в тому числі її ендокринного апарату, структурних еквівалентів та їх функціонального стану в нормі і при патології, представляє одну з основних задач як морфології, так і ендокринології [2].

Ступінь ураження ЩЗ, диференціальна діагностика та фармакотерапія тиропатій найбільш повно можуть бути оцінені на основі морфофункціональних досліджень органу [4, 10].

Гіпотиреоз є однією з найбільш розповсюджених дисфункцій ЩЗ, що супроводжується пригніченням функцій багатьох органів і систем організму та, зокрема, призводить до перебудови структури ЩЗ [2].

Терапія захворювань ЩЗ за останні роки значно не змінилась; арсенал лікарських засобів, призначений для лікування та профілактики, недостатній. У зв'язку з цим виникає потреба у розробці фармакологічних препаратів, в т. ч. на основі рослинної сировини, які виявляють тиреостимулюючу активність.

Однією з лікарських рослин, що застосовується у традиційній та народній медицині для лікування та профілактики гіпотиреозу, є ламінарія цукриста (*Laminaria saccharina L.*), терапевтична дія якої зумовлена високим вмістом йоду. Її використовують для лікування гіпотиреозу, легких форм базедової хвороби, для профілактики ендемічного зобу [1].

Метою нашого дослідження було визначення впливу водного екстракту ламінарії на морфологічний стан ЩЗ на тлі експериментального гіпотиреозу.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Об'єктом дослідження стала ЩЗ білих нелінійних щурів з початковою масою тіла 120 г. Утримання, догляд за тваринами і всі маніпуляції проводили відповідно до положення «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та наукових цілей» (Страсбург, 1985).

Експериментальний гіпотиреоз викликали шляхом введення тваринам субстанції мерказолілу (1-метил-2-меркаптоїмідазол, ФК «Здоров'я», Україна) [3]. Дослідні тварини були поділені на 4 групи: 1 група – щури інтактного контролю; 2 група – тварини, які протягом 30 днів отримували субстанцію мерказолілу, розчинену у питній воді в дозі 5 мг/100г маси тіла (вільний доступ) – контрольна патологія; 3 група – тварини, яким одночасно з мерказолілом (з 13-го по 30-й день та 3 дні поспіль – всього 21 день) внутрішньошлунково вводили водний екстракт ламіна-

© Колектив авторів, 2015

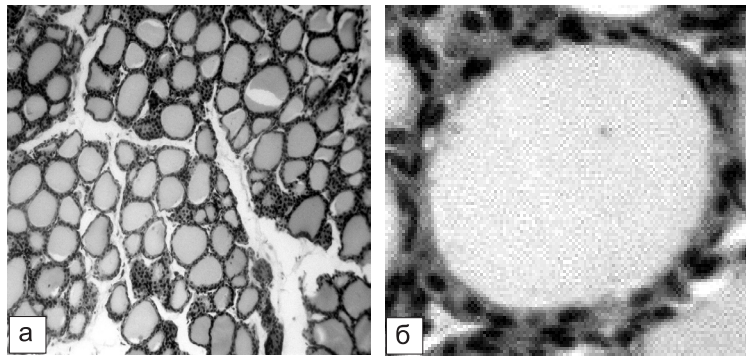


Рис. 1. Щитоподібна залоза інтактного щура: а – нормальний стан фолікулів та екстрафолікулярного епітелію (x100); б – тироцити, що вистеляють стінку фолікула (x250). Гематоксилін-еозин.

рії без полісахаридів у дозі 1 мл/100 г м.т.; 4 група – тварини, яким одночасно з мерказолілом (з 13-го по 30-й день та 3 дні поспіль – всього 21 день) внутрішньо-шлунково вводили препарат порівняння Йодомарин 100 (Берлін-ХЕМІ АГ, Німеччина) у дозі 1,2 мкг/100 г м. т. Виведення з експерименту тварин усіх груп проведено на наступний день після припинення введення досліджуваних речовин. Вилучені обидві частки залоз фіксували у 10 % розчині нейтрального формаліну, зневоднювали у спиртах зростаючої міцності, заливали у целодин-парафін. Зрізи товщиною 5-6 мкм фарбували гематоксиліном та еозином [6]. На зрізах залози вимірювали зовнішній діаметр тиреоїдних фолікулів (окремо по кожному фолікулу заміряли найбільший та найменший діаметр та виводили середній показник), висоту тироцитів, підраховували кількість тироцитів у стінці фолікула. Всі заміри проводили за допомогою окуляр-мікрометра, повіреного об'єкт-мікрометром, у полі зору мікроскопа на різних ділянках мікрорізу. Вимірювали не менше 50 аденонерів у кожному мікропрепараті залози (окуляр 10, об'єктив 40). Статистичну обробку результатів проводили методами варіаційної статистики за допомогою стандартного пакету статистичних програм «Statistica, V. 6,0» [5, 8, 9]. Огляд мікропрепаратів та морфометричні заміри проводили під мікроскопом Micros 400 (Австрія). Мікрофотографування мікроско-

пічних зображень здійснено цифровим фотоапаратом Nikon Col Pix 4500. Фотознімки обробляли на комп'ютері Pentium 2,4 GHz за допомогою програми Nikon View 5.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

В інтактних щурів структура паренхіми обох часток ЩЗ мала звичайну фолікулярну будову, подану тиреоїдними фолікулами різних розмірів. Інтерцелюлярний простір фолікулів заповнений помірно варіабельним за щільністю оксифільним колоїдом. Як правило, колоїд заповнював всю порожнину фолікула, іноді був дещо «розтрісканим» або відставав від стінок фолікулів. У центральній зоні переважали середні та дрібні фолікули, на периферії мали місце великі за розміром фолікули. Форма фолікулів округло-овальна. Тиреоїдний епітелій, що вистеляв стінку фолікулів, здебільшого низької кубічної форми, у великих фолікулах – помірно сплюснений. Фолікулярні тироцити розміщені виключно в один ряд. Ядра клітин щільні, округлі, центрально розташовані. Екстрафолікулярного епітелію небагато. Щільність розташування фолікулів звичайна. Міжчасточкові сполучнотканинні прошарки невиразні. Судини нормального кровонаповнення, нечисленні (рис. 1).

Наведена вище морфологічна будова ЩЗ відповідає стану нормальної, життєздатної, помірно актив-

Таблиця

МОРФОМЕТРИЧНІ ПОКАЗНИКИ, ЩО ХАРАКТЕРИЗУЮТЬ ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН ЩИТОПОДІБНОЇ ЗАЛОЗИ ЩУРІВ, мкм

Група тварин	Показники		
	зовнішній діаметр фолікула	висота тироциту	кількість тироцитів у стінці фолікула
Інтактні щури (інтактний контроль)	39,8 ± 0,4	4,6 ± 0,4	9,2 ± 0,0
Мерказоліл (контрольна патологія)	53,7 ± 0,1*	6,9 ± 0,1*	17,0 ± 0,5*
Мерказоліл + водний екстракт ламінарії	43,0 ± 0,7**	4,9 ± 0,1**	11,6 ± 0,2*/**
Мерказоліл + йодомарин	45,4 ± 3,3**	4,8 ± 0,0**	11,5 ± 0,6*/**

Примітки:

1) * – відмінності статистично значущі відносно групи інтактного контролю, $p < 0,05$ (критерій Ньюмена-Кейлса);

2) ** – відмінності статистично значущі відносно групи контрольної патології, $p \leq 0,05$ (критерій Ньюмена-Кейлса).

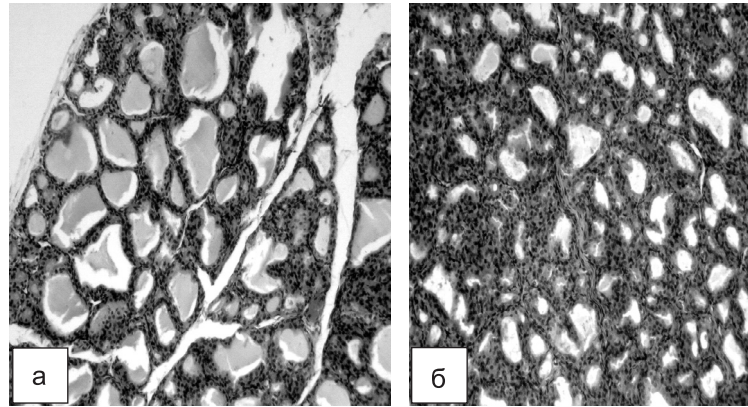


Рис. 2. Щитоподібна залоза щурів після введення мерказолілу. Гематоксилін-еозин. $\times 100$.

ної тканини [7]. Морфометричні показники ЩЗ інтактних щурів, які свідчили про її нормальний функціональний стан, наведені у таблиці.

Через 3 дні після закінчення 30-денного введення мерказолілу у структурній організації ЩЗ щурів порівняно з інтактним контролем виявлені виразні зміни. В цілому, як у субкапсулярних, так і центральних ділянках помітно збільшена чисельність фолікулів, великих за розміром, хоча спостерігали і ділянки, де переважали середні та дрібні за розміром фолікули. Форма фолікулів часто не «стандартна» овально-округла, а неправильна, витягнута, кутаста (рис. 2а). Простежена варіабельна за виразністю проліферація екстрафолікулярного епітелію (більш виразна на ділянках з перевагою середніх та дрібних фолікулів), внаслідок чого ставала нечіткою межа зі стінкою фолікула. Іноді гіперплазія екстрафолікулярного епітелію супроводжувалася створенням мікрофолікулів з ледь помітним просвітом (рис. 2б).

Стан колоїду у порожнині фолікулів був різним. У одних фолікулах колоїду не було зовсім або було мало, він не виповнював всю порожнину, слабо пофарбований, клаптиковий. У інших колоїд виповнював всю порожнину та був дещо розрідженим. Доволі виразно коливався і розмір тироцитів у стінці різних фолікулів (рис. 3а). У великих фолікулах тироцити мали низьку кубічну форму (ядра на погляд теж ста-

вали меншими за об'ємом), в той час як у дрібних фолікулах епітеліальні клітини були гіпертрофованими, їх форма ставала високою кубічною, ядра клітин часто були збільшеними. Вогнищево або по всьому периметру фолікулів часто спостерігали збільшення чисельності тироцитів, порушувалась чіткість розташування їх у ряду (рис. 3б).

У доволі значній кількості фолікулів клітини розташовані у декілька рядів. Проліферація тироцитів призводила до створення у частині фолікулів різних за розміром та гіллястістю сосочкових епітеліальних виростів. Крім того, у стінці деяких фолікулів простежено появу так званих фолікулярних подушок Сандерсона, з вторинними фолікулами та навіть накопиченням ними колоїду. Вогнищево спостерігали збільшення сполучнотканинної стромы, васкуляризація тканини зростала (рис. 4, рис. 5).

Наведена вище морфологічна картина ЩЗ відповідає її гіпофункціональному стану, ускладненому гіперпластичними проліферативними проявами.

Проведені морфометричні заміри підтвердили морфологічні ознаки гіпофункції органу. Так, зовнішній діаметр фолікулів збільшився відносно інтактного контролю у середньому на 34,9 %, висота фолікулярних тироцитів збільшилася в 1,54 рази, а чисельність клітин у стінці фолікула збільшилася у 1,85 рази (табл.).

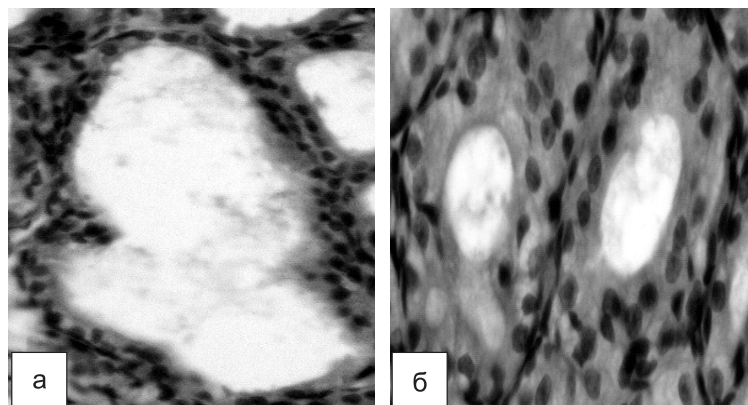


Рис. 3. Щитоподібна залоза щурів після введення мерказолілу. Гематоксилін-еозин. $\times 250$.

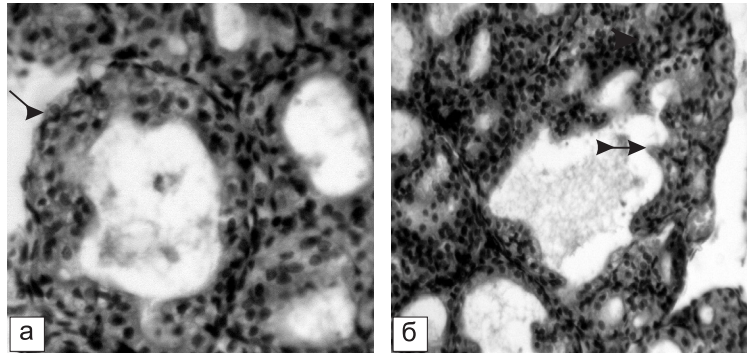


Рис. 4. Щитоподібна залоза щурів після введення мерказолілу: а – багаторядний характер розташування тироцитів у стінці фолікулів, дистрофія клітин (x250); б – епітеліальні вирости у просвіт фолікула (x200). Гематоксилін-еозин.

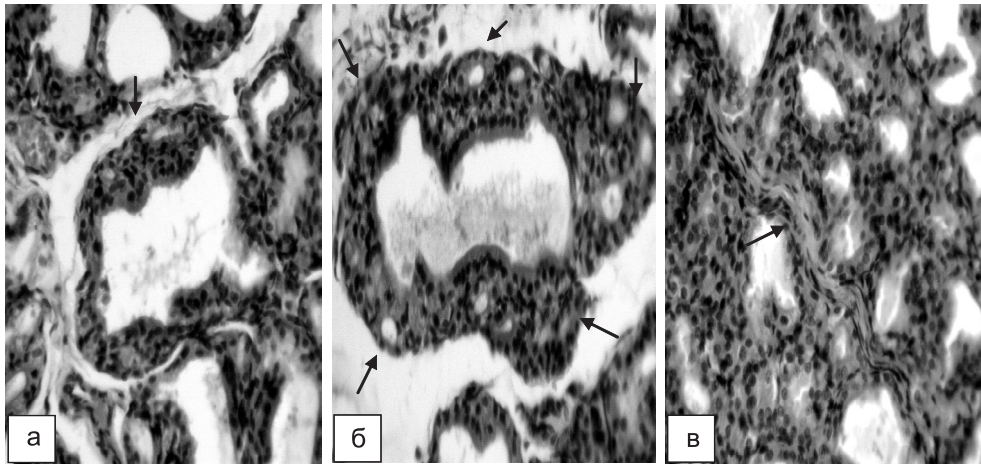


Рис. 5. Щитоподібна залоза щурів після введення мерказолілу: а-б – фолікулярні подушки Сандерсона з вторинними фолікулами у стінці; в – збільшення сполучнотканинної міжфолікулярної стромі. Гематоксилін-еозин. x200.

Після введення щурам водного екстракту ламінарії протягом 21 дня (18 днів одночасно з мерказолілом та ще 3 дні після припинення введення останнього) виразно зменшена чисельність великих за розміром фолікулів (рис. 6а). Форма фолікулів більш наближена до «стандартної», на деяких ділянках мікроскопічна картина паренхіми наближена до норми (рис. 6б).

Колоїд присутній не у всіх фолікулах, стан його різниться за оптичною щільністю. Фолікулярні тироцити не збільшені у розмірі, переважно кубічної форми. Клітини чітко розташовані в один ряд, чисельність їх у стінці зменшена. Зменшена і проліферація екстрафолікулярного епітелію. Фолікули з сочковими епітеліальними виростами у просвіт; наявність подушок Сандерсона була поодиноким (рис. 7).

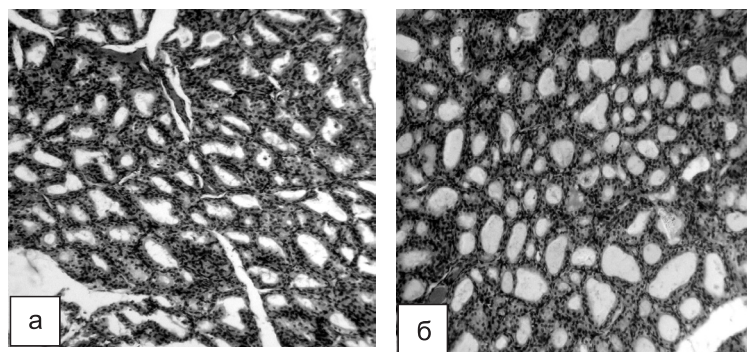


Рис. 6. Щитоподібна залоза щурів, які отримували водний екстракт ламінарії. Гематоксилін-еозин. x100.

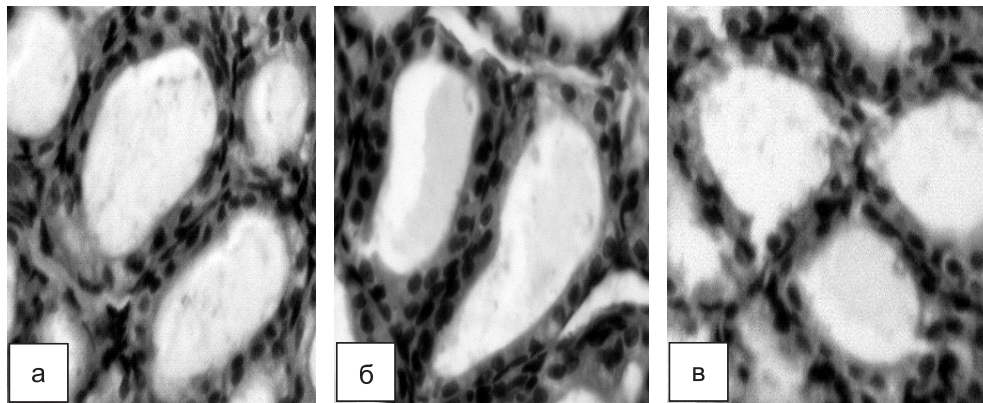


Рис. 7. Щитоподібна залоза щурів, які отримували водний екстракт ламінарії: а-в – різний вміст та щільність колоїду у порожнині фолікулів. Збільшення розміру фолікулярних тироцитів. Гематоксилін-еозин. $\times 250$.

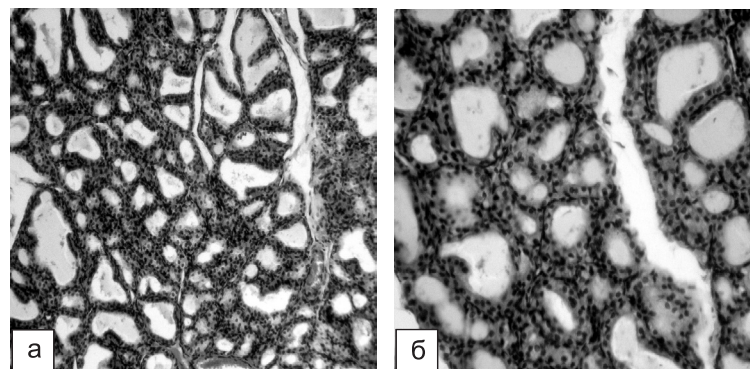


Рис. 8. Щитоподібна залоза щурів, які отримували йодомарин: а – $\times 100$; б – $\times 200$. Гематоксилін-еозин.

Відсутні розростання міжчасточкових сполучнотканинних прошарків. Повнокровність тканини зменшена. Описана вище мікроскопічна картина є морфологічним відображенням підвищення функціональної активності ЩЗ, зменшення виразності струмогенного ефекту, спричиненого мерказолілом.

Морфометричні характеристики ЩЗ щурів цієї групи відповідали спостережуваним змінам морфоструктури: зовнішній діаметр фолікулів зменшився відносно контрольної патології на 19,9 %, висота тироцитів зменшилася на 29,6 %, чисельність епітеліальних клітин у стінці зменшена у 1,46 рази (табл.).

Після введення у тому ж режимі препарату порівняння йодомарину у одних щурів тиреоїдні фолікули ще доволі виразно коливалися за розміром, хоча чисельність великих фолікулів в цілому зменшена. У інших – мікроскопічна картина ЩЗ нагадувала норму. Колоїд теж мав різний вигляд – від блідоеозинофільного сітчастого до доволі «типового». Повнота заповнення ним порожнини фолікулів також різнилася (рис. 8). Фолікулярні тироцити у стінці фолікулів збільшені, мали кубічну, інколи високу кубічну форму. Достатньо показово зменшені і гіперпластичні проліферативні зміни у залозі – проліферація ек-

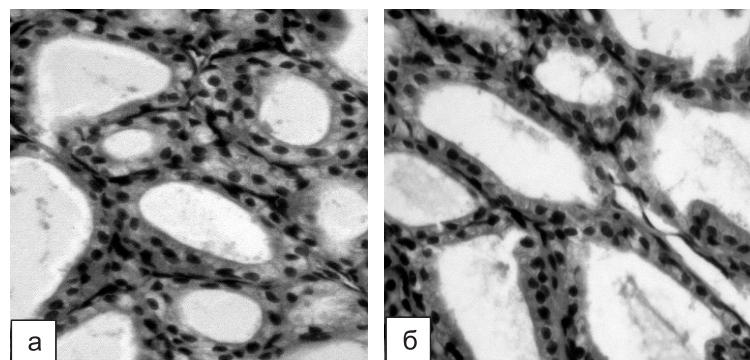


Рис. 9. Щитоподібна залоза щурів, які отримували йодомарин. Гематоксилін-еозин. $\times 250$.

трафолікулярного епітелію та тироцитів у стінці фолікулів (рис. 9).

Всі ці позитивні морфологічні зміни підтверджують морфометричні показники: зовнішній діаметр фолікулів зменшений проти контрольної патології майже на 15,5 %, висота фолікулярних тироцитів зменшена на 31,0 %, чисельність їх у фолікулі – в 1,48 рази (табл.).

ВИСНОВКИ

1. У щурів через три дні після припинення введення мерказолілу спостерігали морфологічну картину тиреоїдної трансформації щитоподібної залози, яка відповідала гіпофункціональному стану, ускладненому проявами гіперпластичної проліферації. Морфологічні зміни корелювали з морфометричними показниками: збільшувався зовнішній діаметр фолікулів, збільшувалася висота фолікулярних тироцитів (прояви гіпофункції), чисельність тироцитів у стінці фолікула також зростала (зобогенний ефект).
2. Водний екстракт ламінарії без полісахаридів та препарат порівняння йодомарин чинять коригуючий вплив на структурні перебудови щитоподібної залози щурів з мерказоліловим гіпотиреозом. Під впливом водного екстракту ламінарії та йодомарину підвищується функціональна активність щитоподібної залози. Зовнішній діаметр фолікулів вірогідно зменшується порівняно з контрольною патологією; висота фолікулярних тироцитів зменшується. Спостерігається і доволі виразне послаблення ознак побічного зобогенного ефекту мерказолілу, про що свідчить зниження проліферативних процесів з боку екстрафолікулярного епітелію та тироцитів у фолікулах (зменшення чисельності тироцитів у стінці фолікула, хоча цей показник і не досягав рівня інтактного контролю).
3. За ефектом коригуючого впливу на структуру та функцію щитоподібної залози водний екстракт ламінарії не поступається препарату порівняння йодомарину.

ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ

ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ

1. Владимирова І. М. Ламінарії слани, обґрунтування вибору для фармакопейної стандартизації / І. М. Владимирова, В. А. Георгіянц, А. Г. Котов // Управління, економіка та забезпечення якості в фармації. – 2011. – № 4. – С. 24-29.
2. Волков В. П. Новый подход к оценке морфофункционального состояния эндокринных желёз // Universum: Медицина и фармакология: электрон. научн. журн. – 2014. – № 9 (10). [Электронный ресурс]. – Режим доступа: URL: <http://7universum.com/en/med/archive/item/1589>.
3. Доклінічні дослідження лікарських засобів: [метод. рекомендації] / За ред. чл.-кор. НАМН України О. В. Стефанова. – К.: Авіценна, 2001. – 528 с.
4. Кваченюк А. Н. Использование фитотерапии при лечении заболеваний щитовидной железы / А. Н. Кваченюк, Е. Л. Кваченюк // Врачеб. дело. – 2012. – № 3-4. – С. 1-4.
5. Лапач С. Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel / С. Н. Лапач, А. В. Чубенко, П. Н. Бабич. – К.: Морион, 2001. – 320 с.
6. Меркулов Г. А. Курс патолого-гистологической техники / Г. А. Меркулов. – М.: Медицина, Ленингр. отд-ние, 1969. – 424 с.
7. Морфофункціональні особливості та поляризаційні властивості тканини щитоподібної залози інтактних щурів / Т. М. Бойчук, А. А. Ходорковська, Н. П. Пантелейчук, С. Б. Єрмоленко // Буковинський мед. вісник. – 2012. – Т. 16, № 3 (63). – С. 13-15.
8. Реброва О. Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA / О. Ю. Реброва. – М.: МедиаСфера, 2006. – 312 с.
9. Халафян А. А. STATISTICA 6. Статистический анализ данных. 3-е изд. Учебник / А. А. Халафян. – М.: ООО «Бином-Пресс», 2007. – 512 с.
10. Щитовидная железа, гистологическое строение. [Электронный ресурс]. – Режим доступа: URL: <http://enc.sci-lib.com/article0001471>.

УДК 616.441-008.64:582.272:615.25**В. Н. Кравченко, Ю. Б. Ларяновская, В. А. Орлова, Е. А. Щербак, О. В. Павиченко, И. Н. Владимирова**
ВЛИЯНИЕ ЭКСТРАКТА ЛАМИНАРИИ НА МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ЩИТОВИДНОЙ
ЖЕЛЕЗЫ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ГИПОТИРЕОЗЕ

Введение мерказолила крысам приводит к изменению морфологической картины щитовидной железы, которая сопровождается проявлениями гиперпластической пролиферации ткани и соответствует гиподисфункциональному состоянию. Морфометрические показатели также подтверждают проявление гиподисфункции. Введение исследуемого экстракта ламинарии оказывает позитивное влияние на структурную перестройку щитовидной железы у крыс с мерказолиловым гипотиреозом, повышая ее функциональную активность. Наблюдается выраженное послабление признаков зобогенного эффекта мерказолила, о чем свидетельствует снижение пролиферативных процессов со стороны экстрафолликулярного эпителия и тироцитов у фолликулах. Внешний диаметр и высота фолликулярных тироцитов уменьшаются в сравнении с контрольной патологией. Препарат сравнения йодомарин проявил по силе и направленности эффект, подобный таковому у экстракта ламинарии.

Ключевые слова: водный экстракт ламинарии; щитовидная железа; гипотиреоз; морфология; морфометрия

УДК 616.441-008.64:582.272:615.25**V. M. Kravchenko, Yu. B. Larianovska, V.O. Orlova, O. A. Shcherbak, O. V. Pavichenko, I. M. Vladymyrova**
INFLUENCE OF EXTRACT OF LAMINARIA ON MORPHOFUNCTIONAL STATE OF THYROID GLAND IN
EXPERIMENTAL HYPOTHYROIDISM

Introduction of Mercazolil to rats causes changes of morphological picture of the thyroid gland, accompanied by signs of hyperplastic tissue proliferation and corresponded to hypofunctional stare. Morphometric parameters also confirm hypofunction manifestation. Introduction of investigational extract has a positive effect on the restructuring of the thyroid gland in rats with Mercazolil hypothyroidism, increasing its functional activity. There is a clear weakening of sings of Mercazolil goitrogenic effect, as evidenced by the decrease in proliferative processes of the extrafollicular epithelium and thyrocytes in the follicles. The outer diameter and height of follicular thyrocytes is reduced compared with the control pathology. Comparative medication Iodomarin showed the strength and orientation effects similar to that of Laminaria extract.

Key words: aqueous extract of Laminaria; thyroid gland; hypothyroidism; morphology; morphometry

Адреса для листування:
61002, м. Харків, вул. Мельникова, 12.
Тел. 8(057)7063099 .
Національний фармацевтичний університет

Надійшла до редакції
12.04.2015 р.