МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ВІННИЦЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
імені М. І. ПИРОГОВА МОЗ УКРАЇНИ

ПІСКУН ІЛОНА ІВАНІВНА

УДК 611-018.5:611.43/.47:616.43/.45:572.786

МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА ЩИТОПОДІБНОЇ ЗАЛОЗИ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ АТЕРОСКЛЕРОЗІ ТА ЗА УМОВ ГЕННОЇ ТЕРАПІЇ

14.03.01 – нормальна анатомія

АВТОРЕФЕРАТ

дисертації на здобуття наукового ступеня

кандидата медичних наук

Вінниця – 2012

Дисертацією є рукопис.
Робота виконана у Вінницькому національному медичному університеті імені М. І. Пирогова МОЗ України.

Науковий керівник: доктор медичних наук, професор
Костюк Григорій Якович,
Вінницький національний медичний університет імені М. І. Пирогова МОЗ України, завідувач кафедри оперативної хірургії та топографічної анатомії.

Офіційні опоненти:

- доктор біологічних наук, професор **Волков Костянтин Степанович**, державний вищий навчальний заклад «Тернопільський державний медичний університет імені І.Я.Горбачевського», завідувач кафедри гістології, цитології та ембріології;

- доктор медичних наук, професор **Олійник Ігор Юрійович**, Буковинський державний медичний університет, професор кафедри патоморфології.

Захист відбудеться «_____»_____2012 року о ____ годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 05.600.02 при Вінницькому національному медичному університеті імені М. І. Пирогова (21018, м. Вінниця, вул. Пирогова, 56).

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Вінницького національного медичного університету імені М. І. Пирогова (21018, м. Вінниця, вул. Пирогова, 56).

Автореферат розісланий «_____» _____ 2012 року.

Учений секретар
спеціалізованої вченої ради О.В.Власенко

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. В останні роки рівень захворювань щитоподібної залози у світі збільшився (Є.Г.Топка, Ю.В.Мамрак, 2003; В.Н.Андросов, 2005; Ф.В.Шикаева и др., 2006; К.С.Волков, 2008; І.Ю.Олійник, 2008). Останнє десятиріччя в Україні відзначене зростанням кількості захворювань щитоподібної залози більш, ніж у три рази (І.Ю.Кучма, 2009). Щитоподібна залоза є важливим органом ендокринної системи, її гормони регулюють всі види обміну речовин в організмі. Щитоподібна залоза приймає активну участь у процесах розвитку та росту організму, сприяє його адаптації до змін факторів зовнішнього середовища. Це зумовлює потребу у подальшому поглибленому вивченні її морфологічних особливостей (С.М.Калашникова, 2003; О.А.Калміна, Е.С.Баришева, 2006). Вона має виражену реактивність та здатність змінювати свої морфофункціональні параметри під впливом різноманітних ендогенних та екзогенних факторів (Е.С.Болгова, 2003; Д.С.Анронова, 2007; Ю.Т.Ахтемійчук, І.Ю.Олійник, 2008). Оскільки серцево-судинна система є однією з основних мішеней для тиреоїдних гормонів (М.В.Макушева, Д.В.Килейников, 2002; Л.А.Панченкова и др., 2003; Н.А.Петунина, 2005; 2007; Л.О.Стеченко, 2010), то вона і найбільше потерпає від нестачі гормонів щитоподібної залози. Ураження серцево-судинної системи спостерігається у більшості (70-82 %) хворих на гіпотиреоз; клінічні прояви серцево-судинних розладів виникають навіть у 25-50 % хворих на субклінічний гіпотиреоз (Н.Б.Зелінська, 2010). Виявлено, що ступінь порушень, які відбуваються у серцево-судинній системі, залежить від вираженості гіпотиреозу. Підвищений ризик розвитку атеросклерозу у пацієнтів з недостатністю тиреоїдних гормонів підтверджено патологоанатомічними і епідеміологіними дослідженнями (В.В.Самитин, Т.И.Родионова, 2008). У науковій літературі наявні роботи, які підтверджують вплив зниженої функції щитоподібної залози на виникнення ішемічної хвороби серця (С.Е.Середюк и др., 2003; Л.И.Браверман та ін., 2009; Bernadette Blondi et al., 2003; Zeynep Canturk et al., 2003; Frederick L. Ruberg et al., 2006). Навіть при легкій формі гіпотиреозу уповільнюється окислення холестерину, порушується транспорт і виведення атерогенних ліпідів з організму із жовчю, а рівень холестерину підвищується нерідко у 5-10 разів, відбувається прискорення розвитку атеросклерозу, симптоматика якого стає провідною, а гіпофункція щитоподібної залози часто не роспізнається (В.М.Провоторов и др., 2002). Загальна захворюваність маніфестною формою гіпотиреозу у популяції складає 0,2-2 %, субклінічного – біля 7-10 % серед жінок і 2-3 % серед чоловіків (Э.Х.Заремба, О.Р.Макар, 2009). Неоднозначний вплив лікарських форм тиреоїдних гормонів на гіперхолестеринемію. Ступінь зниження варіює у різних хворих і залежить від різних варіантів гена рецептора ліпопротеїнів низької

щільності (В.Г.Ковешников, 2003; В.А.Кордюм, 2010). Для діагностики, лікування і профілактики захворювань щитоподібної залози необхідні алгоритми їх патогенезів, які можливо розробляти тільки при повному вивченні структурно-функціональної організації органу. В зв'язку з цим вивчення морфології щитоподібної залози в нормі і патології є надзвичайно актуальною проблемою для медицини. Тому, проведення детального поглибленого дослідження щитоподібної залози при експериментальному атеросклерозі та його генній корекції дозволить розкрити патогенез цього захворювання та удосконалити методи корекції.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Тема дисертації затверджена Проблемною комісією МОЗ і АМН України «Морфологія людини» 28 травня 2009 року (протокол № 93) і вченою радою стоматологічного та фармацевтичного факультетів Вінницького національного медичного університету імені М. І. Пирогова 21 січня 2010 року (протокол № 3). Дисертаційне дослідження є частиною планової комплексної науково-дослідної роботи Вінницького національного медичного університету імені М. І. Пирогова «Морфофункціональний стан кровоносного русла та клітинних елементів органів і тканин при експериментальному атеросклерозі в умовах генної терапії», № держреєстрації - 0108U001484. Дисертант є співвиконавцем даної наукової теми.

Мета дослідження. Встановити структурно-функціональні особливості перебудови щитоподібної залози при експериментальному атеросклерозі та за умов генної терапії.

Задачі дослідження:

1. Встановити особливості структурної перебудови щитоподібної залози та провести морфометричну оцінку змін її структурних компонентів при експериментальному атеросклерозі.
2. З'ясувати на різних структурних рівнях зміни компонентів щитоподібної залози при генній корекції експериментального атеросклерозу.
3. Визначити характер морфологічних і морфометричних змін судинного русла щитоподібної залози при моделюванні атеросклерозу і його генній корекції.
4. Провести порівняльний аналіз особливостей біохімічних показників ліпідного обміну сироватки крові та вмісту гормонів щитоподібної залози у нормі, при змодельованій патології та при її корекції.

Об'єкт дослідження: морфогенез атеросклерозу в експерименті та за умов його генної корекції.

Предмет дослідження: морфофункціональний стан щитоподібної залози при експериментальному атеросклерозі та за умов його генної терапії.

Методи дослідження: експериментальний – для створення моделі пригнічення функції щитоподібної залози та експериментального атеросклерозу; макроморфометричний - для вивчення структурно-просторової організації щитоподібної залози; гістологічний, електронномікроскопічний та морфометричний - для дослідження якісних і кількісних характеристик судин, фолікулів і тироцитів щитоподібної залози у нормі, при експериментальному атеросклерозі та генній корекції; гістохімічний - для виявлення ліпідів і глікозаміногліканів та глікопротеїнів у структурних компонентах щитоподібної залози; біохімічний - для дослідження ліпідного спектру сироватки крові; функціональний (хемілюмінесцентний) - для визначення гормональної функції щитоподібної залози; статистичний - для аналізу достовірності отриманих цифрових даних.

Наукова новизна одержаних результатів. Отримані нові дані про особливості морфофункціональних змін щитоподібної залози щурів при експериментальному атеросклерозі та позитивний вплив генної корекції. Вперше при генній корекції експериментального атеросклерозу встановлено, що використання гену аполіпопротеїну Е з лікувальною і профілактичною метою покращує кровопостачання щитоподібної залози (збільшується діаметр і площа просвіту судин, зменшується товщина стінки); відмічається збільшення висоти тироцитів, їх площі, площі фолікулярного епітелію і фолікулярно-колоїдного індексу та зменшення площі фолікулів і площі колоїда, його об’єму та індексу накопичення колоїду; відбувається підвищення рівня вільного тироксину і трийодтироніну та знижується рівень тиреотропного гормону.

Практичне значення одержаних результатів. Проведені дослідження розширюють і поглиблюють знання про компенсаторно-адаптаційні можливості щитоподібної залози при експериментальному атеросклерозі. Результати дослідження показують особливості морфофункціональних змін кровоносних судин, фолікулів і тироцитів щитоподібної залози за умов експериментального атеросклерозу та при його генній корекції, показують ступінь її ефективності, а також доцільність її використання у практичній медицині. За результатами наукових даних розроблено і отримано патент на «Спосіб профілактики гіпофункції щитоподібної залози при експериментальному атеросклерозі» (Деклараційний Патент України на корисну модель ([19] UA 66623 [13]U, Україна, [51]МПК G09B 23/28 (2006. 01); № U 201107784 ; заявл. 20. 06. 2011; опубл. 10. 01. 2012, Бюл. № 1. - 2 с.).

Матеріали дисертації впроваджені у навчальний процес і наукову роботу кафедри топографічної анатомії та оперативної хірургії ВДНЗ України «Українська медична стоматологічна академія»; кафедри анатомії людини Запорізького державного медичного університету; кафедри анатомії людини та

гістології медичного факультету Ужгородського національного університету; кафедри загальної хірургії, оперативної хірургії та топографічної анатомії Дніпропетровської державної медичної академії; кафедри оперативної хірургії та топографічної анатомії Одеського національного медичного університету; кафедри анатомії людини Буковинського державного медичного університету імені М.Г. Туркевича; курсу оперативної хірургії та топографічної анатомії Івано-Франківського національного медичного університету; кафедр оперативної хірургії та топографічної анатомії та кафедри анатомії людини Вінницького національного медичного університету імені М. І. Пирогова.

Особистий внесок здобувача. Дисертаційна робота є самостійним науковим дослідженням. Здобувачем особисто проаналізована наукова література й обґрунтована мета і задачі дослідження, проведено експеримент, забрано матеріал з наступною його обробкою, заливкою і виготовленням препаратів. Проведено функціональне, макроморфометричне, гістологічне, гістохімічне дослідження. Здійснено опис гістологічних і електронно-мікроскопічних препаратів, проведено мікроморфометрію з наступною статистичною обробкою отриманих результатів і оформлення дисертації. Проведено біохімічне дослідження. Автором проведено аналіз та узагальнення результатів дослідження. Разом з науковим керівником сформульовано основні положення і висновки дисертації. У наукових працях, опублікованих в співавторстві, і в актах впровадження, що стосується науково-практичної новизни, використано фактичний матеріал автора.

Апробація результатів дисертації. Основні положення дисертації оприлюднені на: V Українській науково-практичній конференції з міжнародною участю з клінічної фармакології на тему «Досягнення та перспективи клінічної фармакології» (Вінниця, 2008); науково-практичній конференції «Прикладні аспекти морфології експериментальних і клінічних досліджень» (Тернопіль, 2008); II з'їзді фізіологів країн СНГ «Физиология и здоровье человека» (Кишинэу, Молдова, 2008); конгресі «Человек и лекарство. Краснодар-2008», присвяченому 100-річчю від дня народження академіка РАМН М. Д. Машковського, 100-річчю присудження Нобелівської премії І. І. Мечнікову, 100-річчю від дня народження академіка РАМН А. Д. Адо (Краснодар, 2008); V Міжнародній науковій конференції «Фактори експериментальної еволюції організмів», присвяченій 200-річчю від народження Чарльза Роберта Дарвіна, 125-річчю від народження І.І.Шмальгаузена (Алушта, 2009); науковому конгресі «IV Міжнародні Пироговські читання», присвяченому 200-річчю М. І. Пирогова. V з'їзді АГЕТ України (Вінниця, 2010); науково-практичній конференції з міжнародною участю «Генетична і регенеративна медицина: проблеми та перспективи» (Київ, 2010); VI Всеукраїнській науково-практичній конференції з

міжнародною участю з клінічної фармакології, присвяченій 90-річчю професора О. О. Столярчука на тему: «Клінічна та експериментальна фармакологія метаболічних коректорів, органопротекція, доказова медицина» (Вінниця, 2010); Всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю «Актуальні проблеми сучасної морфології», присвяченій 75-річниці з Дня народження професора М. С. Скрипникова (Полтава, 2011); науково-практичній конференції з міжнародною участю, присвяченій 170-річчю створення кафедри фармакології та клінічної фармакології національного медичного університету імені О. О. Богомольця «Актуальні питання клінічної та експериментальної фармакології» (Київ, 2011); науково-практичній конференції «Морфологічні аспекти мікроциркуляції в нормі та патології» (Тернопіль, 2011); конференції «Механізми фізіологічних функцій в експерименті та клініці», присвяченій 110-річчю від дня народження заслуженого діяча науки України професора Л. П. Склярова (Львів, 2011); IV з'їзді фармакологів України (Київ, 2011); І-му Українсько - Йорданському медичному конгресі (Вінниця, 2011).

Публікації. За темою дисертації опубліковано 19 наукових праць (7 – одноосібних), з них: 8 – у наукових фахових виданнях України; 10 - у збірниках матеріалів науково-практичних конференцій; 1 деклараційний патент на корисну модель.

Структура та обсяг дисертації. Дисертація викладена на 165 сторінках (130 сторінок заліково-принтерного тексту) і складається зі вступу, 6 розділів, висновків, додатків. Список використаних літературних джерел містить 280 робіт, з яких 218 викладено кирилицею, 62 латиницею. Дисертація ілюстрована 67 рисунками та 33 таблицями.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Матеріал і методи дослідження. Дослідження проведено на 44 білих лабораторних статевозрілих щурах-самцях з вихідною масою тіла 150-180 г на базі науково-експериментальної клініки Вінницького національного медичного університету імені М. І. Пирогова. Всі маніпуляції та утримання тварин проводили у відповідності до положень «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1985 р.), «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», які ухвалені Першим Національним конгресом з біоетики (Київ, 2001 р.) та комітету з біоетики Вінницького національного медичного університету імені М. І. Пирогова (протокол № 11 від 07.09. 2011 р.).

Всі піддослідні тварини були розділені на 5 груп: перша група - інтактні тварини, яких утримували у звичайних умовах віварію; тваринам другої групи вводили 4(6) Метил-2-тіоурацил для пригнічення функції щитоподібної залози;

тваринам 3, 4 та 5 груп створювали модель експериментального атеросклерозу за класичною методикою Н. Н. Анічкова шляхом внутрішньошлункового введення продовж 30 діб за допомогою зонду з оливою кристалічного холестерину на соняшниковій олії у дозі 0,5 г/кг маси тіла щура і додатково 4(6) Метил-2-тіоурацилу у вище вказаній дозі. Щурам четвертої групи з профілактичною метою вводили ген аполіпопротеїну Е по 50 мкг ДНК на тварину внутрішньом'язево один раз в 1 день досліду. В якості вектора використовували ліпосоми DOTAP Methosulfate salt (Product Code: D 1163 0,4ml 121, 60, $C_{43}H_{83}NO_8S$ FW 7774,2 фірми «SIGMA»). Включення гену у ліпосоми проводили за 15 хвилин до внутрішньом'язевої ін'єкції з розрахунку 1мкг ДНК аполіпопротеїна Е на 5 мкг DOTAP. Тваринам п'ятої групи з лікувальною метою ген аполіпопротеїна Е вводили у тій же самій дозі на 15 день експерименту. По закінченню досліду масу тварин визначали на настільних вагах типу РН-10ц УЗ. Всіх піддослідних тварин виводили з експерименту шляхом декапітації під ефірним наркозом. Після розтину шкіри на передній поверхні шиї щурів швидко виділяли щитоподібну залозу для подальшого дослідження. Масу залози визначали зважуванням на торсійних вагах ВТ-500 одразу ж після її видалення, за формулою розраховували індекс щитоподібної залози. Залозу фіксували у 10 % розчині нейтрального формаліну з трьохразовою зміною фіксатора протягом 2 тижнів і по перешийку розрізали на дві частки. Праву частку залози промивали під струменем проточної води протягом однієї доби для того, щоб звільнити об'єкт від фіксатора. Після промивання щитоподібна залоза підлягала подальшому ущільненню шляхом зневоднення у спиртах зростаючої концентрації і заливці у парафінові блоки. На санному мікротомі МС-2 виготовляли гістологічні зрізи товщиною 5-6 мкм. Отримані зрізи забарвлювали гематоксиліном-еозином та гематоксиліном-пікрофуксином за Ван-Гізон (О.В.Волкова, Ю.К.Елецкий, 1982), а для виявлення глікопротеїну тиреоглобуліну у колоїді фолікулів та глікозаміногліканів основної речовини сполучної тканини використовували комбінований метод ШИК-реакція + альціановий синій за методикою Моурі. Для характеристики секреторних процесів і визначення стану колоїду використовували забарвлення за Маллорі, при цьому рідкий колоїд має блакитний колір, а щільний – червоний. Виявлення загальних ліпідів проводили за методом Лізона (А.И.Кононський, 1976). Оцінку мікропрепаратів щитоподібної залози проводили при різних збільшеннях (окуляр х10, об'єктив х20, х40, х90) за допомогою мікроскопа ЛОМО Биолам И. Мікроморфометричне дослідження паренхіми і судин щитоподібної залози проводили, використовуючи систему візуального аналізу гістологічних препаратів. Зображення на монітор комп'ютера виводили з мікроскопу за допомогою відео-камери Vision CCD Camera і програми InterVideoWinDVR та

документували на жорсткому диску комп'ютера. Морфометричні дослідження проводили за допомогою програм ВидеоТест-5.0, КААРА Image Base та Microsoft Exel на персональному комп'ютері Samsung SyncMaster 931c. На парафінових зрізах товщиною 5-6 мкм, забарвлених гематоксилін-еозином вимірювали такі морфометричні показники: середню висоту тироциту, площу фолікула, площу колоїду, найбільший та найменший діаметр фолікула. Використовуючи дані цих вимірювань, визначали об'єм фолікула, площу фолікулярного епітелію, фолікулярно-колоїдний індекс та індекс накопичення колоїду (В.Г.Ковешников, Фомина, 2008). Морфометрію артерій малого діаметру щитоподібної залози проводили за методикою С.В.Шорманова (1998 рік). Визначали зовнішній та внутрішній діаметри судин, площу поперечного перерізу артерій, площу просвіту артерій, товщину стінки і розраховували індекс Вогенворта. Електронномікроскопічне дослідження щитоподібної залози експериментальних тварин проводили за загальноприйнятою методикою. Визначення показників ліпідного спектру сироватки крові проводили уніфікованими методами: вміст загального холестеролу визначали ензиматичним методом з 4-амінфеназоном з використанням стандартного набору «Холестерин-Ф» (Філіст-Діагностика, Україна); вміст загальних ліпідів визначали уніфікованим методом за реакцією з фосфорнованіліновим реактивом після попереднього гідролізу з сірчаною кислотою з використанням стандартного набору «Загальні ліпіди» (Філіст-Діагностика, Україна); вміст тригліцеридів визначали за утворенням формальдегіду в реакції з метилацетоном, а вміст холестеролу α-ліпопротеїнів у сироватці крові визначали осадженням фосфорновольфрамовою кислотою з подальшим визначенням ферментативним методом (В.В.Меншиков, 1987; В.С Камишніков, 2000). Для вивчення секреторної активності щитоподібної залози визначали вміст вільного тироксину, вільного трийодтироніну і тиреотропного гормону у сироватці крові експериментальних тварин всіх груп. За допомогою хемілюмінесцентного імунного аналізу із застосуванням парамагнітних часточок на аналізаторі-фотометрі (Access № 403714 фірми «Beckman-Coulter») з використанням наборів реагент ТТГ-ІФА, вТ4-ІФА та вТ3-ІФА(ООО Хема-Медика, Росія).

Кількісний аналіз результатів досліджень із статистичною обробкою отриманих даних проводили за допомогою програми «STATISTIKA 5,5» і математично-статистичного пакету «Microsoft Offise Excel-2003». Для кожного з отриманих варіаційних рядів оцінювали характер розподілів, а також визначали середню арифметичну величину (M) для кожної ознаки, її похибку (m) і стандартне квадратичне відхилення (δ) (Г.Г.Автандилов, 1991). Достовірність різниці результатів визначали за таблицями Стьюдента для малих і великих вибірок.

Результати дослідження та їх обговорення

Отримані дані макроморфометричного дослідження щитоподібної залози щурів *у нормі* показали, що маса щитоподібної залози становить 0,0394±0,001 г, а її індекс 0,00019±0,00001.

Визначення функціонального стану щитоподібної залози інтактних щурів показав, що рівень вільного тироксину дорівнює 1,09±0,0437 пмоль/л, вільного трийодтироніну - 2,85±0,1064 пмоль/л, рівень тиреотропного гормону - 0,02±0,0048 ммоль/л.

Отримані дані мікроморфометричного дослідження параметрів щитоподібної залози інтактних щурів показали, що висота тироцитів дорівнює 10,2±0,1 мкм, площа тироцитів - 140,1±2,8 мкм^2, площа фолікулів - 2186,5±85,1 мкм^2, об'єм фолікула – 981,2±21,6 мкм^3, площа колоїду - 981,2±21,6 мкм^2, а площа фолікулярного епітелію - 1205,3±62,3 мкм^2. Фолікулярно-колоїдний індекс дорівнює 2,2±0,1, індекс накопичення колоїду - 2,9±0,1. При мікроморфометричному дослідженні артерій малого діаметру щитоподібної залози інтактної групи тварин було встановлено, що їх зовнішній діаметр становить - 42,89±1,66 мкм, внутрішній - 23,99±0,51 мкм, товщіна стінки - 9,44±0,61 мкм; площа поперечного перерізу становить 472,67±36,85 мкм^2, площа просвіту - 150,97±3,62 мкм^2, площа стінки - 316,69±32,35 мкм^2.

Дані електронномікроскопічного дослідження щитоподібної залози інтактних тварин показали, що клітинний компонент фолікулів - тироцит має специфічні ознаки ультраструктурної організації, які пов'язані з його ендокринною функцією. Характерною особливістю тироцитів є полярна диференціація. Вона полягає у розподілі органел і розташуванні ядра у цитоплазмі та наявності мікроворсинок на апікальній поверхні. Базальна і середня частина цитоплазми включає ядро, канальці гранулярної ендоплазматичної сітки, полісоми, мітохондрії, окремі вакуолі. Така будова свідчить про нормальні обмінні процеси.

Результати макроморфометричних параметрів щитоподібної залози щурів *при експериментальному атеросклерозі* показали, що відмічалося статистично значуще збільшення маси щитоподібної залози щурів при експериментальному атеросклерозі без корекції у 2,97 рази та її індексу у 3,8 рази.

При мікроскопічному дослідженні щитоподібної залози щурів з експериментальним атеросклерозом без корекції виявлено, що у паренхімі залози статистично значуще збільшуються площа фолікула - у 2,8 рази, площа колоїду - у 4,05 рази, об'єм фолікула - у 1,2 рази та індекс накопичення колоїду - у 1,9 рази; статистично значуще зменшувалася висота тироциту - у 1,9 рази і його площа - у 2,08 рази, площа фолікулярного епітелію - у 1,8 рази та фолікулярно-

колоїдний індекс - у 1,4 рази у порівнянні з групою інтактних щурів.

Результати мікроскопічного дослідження кровоносних судин показали, що виникали статистично значущі зміни: збільшення товщини стінки судин – на 60,9 %, площі поперечного перерізу - на 60,1 %, зовнішнього діаметру – на 91 % і індексу Вогенворта – у 3 рази; зменшення площі просвіту на 14,8 % і внутрішнього діаметру артерій малого діаметру на 66,9 %, порівняно з групою інтактних щурів.

Дані біохімічного дослідження сироватки крові щурів вказували на статистично значущі порушення ліпідного спектру сироватки крові: рівень загального холестерину зростає у 3,2 рази, рівень загальних ліпідів - у 1,7 рази, β-ліпопротеїнів - у 12,5 рази та індексу атерогенності - у 7,3 рази; також відбувалося зниження концентрації антиатерогенних ліпопротеїнів - α-ліпопротеїнів у 1,4 рази, порівняно з даними показниками в інтактних тварин.

При аналізі показників функціонального стану щитоподібної залози виявлено, що статистично значуще зменшуються рівень вільного тироксину у 4 рази, вільного трийодтироніну у 1,5 рази та збільшується рівень тиреотропного гормону у 2,4 рази, порівняно з групою інтактних тварин.

Отримані дані електронномікроскопічного дослідження щитоподібної залози щурів встановили зміни, що характерні для гіпофункції органу. Більшість фолікулів мали стінку, що створена низькими за висотою, видовженими по периметру фолікула тироцитами. Ядра клітин виглядали зменшеними, мали неправильну форму за рахунок інвагінацій каріолеми. Каріоплазма включала електроннощільні ділянки гетерохроматину, невеликі осміофільні ядерця спостерігалися рідко, ядерні пори поодинокі. В цитоплазмі таких тироцитів мала щільність органел, тому вона виглядала світлою. Канальці гранулярної ендоплазматичної сітки були нерівномірно потовщені, на окремих ділянках - значно, на поверхні їх мембран мало рибосом. Короткі цистерни диктіосом комплексу Гольджі невеликі за розмірами, в їх складі небагато вакуолей і міхурців. Мітохондрій також небагато, в їх гомогенізованому матриксі наявні пошкоджені кристи, а окремі органели мали дефекти зовнішніх мембран. Відмічалося мало вільних рибосом і полісом. В апікальній частині цитоплазми були розташовані поодинокі, невеликі лізосоми та міхурці. Мікроворсинки на апікальній поверхні тироцитів нечисельні, невисокі і вузькі. У фолікулах встановлені тироцити, що мали у цитоплазмі великі, круглі, підвищеної осміофілії ліпідні включення, які локалізовані частіше в апікальній частині цитоплазми, або в інших ділянках. Сполучнотканинна смужка, виглядала набряклою, мала електронносвітлий аморфний компонент і включала окремі колагенові фібрили. Змінювалася ультраструктурна організація кровоносних капілярів. Більшість із них мали широкі просвіти заповнені еритроцитами.

Ендотеліоцити значно змінені. В цитоплазмі мало органел і піноцитозних міхурців, їх плазмолема люменальної поверхні нерівна, мікроворсинки поодинокі. У цитоплазматичних витончених ділянках спостерігалося мало фенестр. Такі гемокапіляри обмежені потовщеними базальними мембранами, що свідчить про порушення обмінних процесів.

Аналіз результатів макроморфометричного дослідження щитоподібної залози щурів *при генній корекції експериментального атеросклерозу з метою профілактики* показав, що маса щитоподібної залози щурів зменшилася у 1,36 рази, а її індекс - у рази 1,2 рази, що було статистично значимим порівняно з групою експериментального атеросклерозу без корекції.

Аналіз мікроморфометричних досліджень параметрів щитоподібної залози щурів, яким ген аполіпопротеїна Е вводився з профілактичною метою, показав статистично значущі зміни: висота тироциту збільшується на 60,2 %; площа тироциту збільшується на 75,8 %; площа фолікула зменшується на 49,7 %; об'єм фолікула зменшується на 84,9 %; площа колоїду фолікула зменшується на 43,1 %, площа фолікулярного епітелію збільшується на 56,2 %; фолікулярно-колоїдний індекс збільшується на 88,8%; індекс накопичення колоїду зменшується на 60,6 %, порівняно з групою експериментального атеросклерозу без корекції. Проведене мікроморфометричне дослідження судин щитоподібної залози щурів показало, що площа поперечного перерізу артерій у тварин при введенні гену аполіпопротеїна Е з метою профілактики зменшується на 67,7 %; площа просвіту судин збільшується на 77,7 %; зовнішній діаметр артерій зменшується на 94,2 %, внутрішній діаметр артерій збільшується на 73,6 %, товщина стінки артерій зменшується на 75,2 %, а площа стінки артерій на – 63,9 % та індекс Вогенворта на 54,9 %, що є статистично значущим порівняно з групою щурів із експериментальним атеросклерозом без корекції.

У результаті проведеного біохімічного дослідження виявлено статистично значуще зниження рівня загального холестерину крові на 71,9%, рівня холестерину β-ліпопротеїнів на 62,1 %, зниження індексу атерогенності на 49,3 %, концентрація загальних ліпідів сироватки крові щурів знизилася на 87,5 %. Визначення функціонального стану щитоподібної залози щурів показали, що рівень вільного тироксину збільшується на 50,7 %, вільного трийодтироніну на 74,2 %, а рівень ТТГ зменшується на 46,8 %, що є статистично значущим порівняно з групою експериментального атеросклерозу без лікування.

Проведені дослідження субмікроскопічного стану щитоподібної залози тварин з експериментальним атеросклерозом при профілактичному введенні гену аполіпопротеїна Е показали, що тироцити у складі більшості фолікулів мають прямокутну форму. Ядра тироцитів округло-овальної форми, їх каріолема на окремих ділянках нерівна за рахунок інвагінацій. В каріоплазмі переважає

еухроматин, а біля ядерця та у каріоплазмі біля каріолеми наявні скупчення гранул рибосомального типу. Перинуклеарний простір вузький і рівномірний, спостерігаються ядерні пори. У цитоплазмі встановлена помірна кількість органел. Канальці гранулярної ендоплазматичної сітки розташовані у базальній частині цитоплазми тироцитів, вони місцями розширені, на їх мембранах наявні рибосоми. У складі комплексу Гольджі є невеликі, нешироκі цистерни, вакуолі і міхурці. Полісом і вільних рибосом помірна кількість. Наявні невеликі і середні за розмірами мітохондрії з помірно осміофільним матриксом і чіткими кристами. В апікальній частині цитоплазми тироцитів наявні мікроміхурці, невеликі осміофільні, круглі лізосоми. Плазмолема на апікальній ділянці має мікроворсинки. Субмікроскопічна організація кровоносних капілярів менше змінена, ніж у тварин при експериментальному атеросклерозі без корекції. Для гемокапілярів характерні нешироκі просвіти, у яких можуть спостерігатися формені елементи крові. Ендотеліоцити видовженої форми, навколо їх еліпсоподібної форми ядер розташовані невеликі і нечисельні органели. У цитоплазматичних ділянках ендотеліоцитів чітко визначалися фенестри, а на люменальній поверхні клітин наявні поодинокі мікроворсинки. Така структурна організація гемокапілярів свідчить про нормальний перебіг транскапілярних обмінних процесів.

Дані макроморфометричного дослідження показали, що маса щитоподібної залози щурів *при генній корекції експериментального атеросклерозу з метою лікування* знизилася у 1,45 рази, а її індекс – у 1,3 рази.

Результати біохімічного дослідження сироватки крові показали статистично значущі відмінності: відбулося зниження рівня загального холестерину на 30,3 %; зниження рівню холестерину β-ліпопротеїнів на 26,8%; індекс атерогенності знизився на 79,1 %; концентрація загальних ліпідів знизилась на 19,5 %; рівень тригліцеридів на 85,7 %; рівень холестерину пре-β-ліпопротеїнів на 85,6 %; холестерин α-ліпопротеїни (ЛПВЩ) збільшуються на 36,4 %, проти групи тварин з експериментальним атеросклерозом без лікування.

Відбулося статистично значуще покращення функціонального стану щитоподібної залози: рівень вільного тироксину збільшувався на 82,5 %, вільного трийодтироніну на 85,2 %, а рівень ТТГ знизився на 70,2 %, порівняно з групою тварин із експериментальним атеросклерозом без лікування.

Аналіз мікроморфометричних досліджень параметрів щитоподібної залози щурів при генній корекції експериментального атеросклерозу щурів в режимі лікування показав наступні зміни: зменшується площа фолікула в 1,5 раза, площа колоїду у 1,4 рази, об’єм фолікула у 1,1 рази та індекс накопичення колоїду у 1,2 рази; збільшується висота тироциту у 1,5 рази і його площа у 1,4 рази, площа фолікулярного епітелію у 2,1 рази та фолікулярно-колоїдний індекс у 1,02 рази,

порівняно з групою щурів з експериментальним атеросклерозом без лікування.

Аналіз мікроморфометричного дослідження судин щитоподібної залози щурів при генній корекції експериментального атеросклерозу показав: зменшення товщини стінки судин – на 73,9 %, площі поперечного перерізу на 85,9 %, зовнішнього діаметру – на 98,9 % і індексу Вогенворта – у 1,4 рази; збільшення площі просвіту на 65 % і внутрішнього діаметру артерій малого діаметру на 82,8 %, порівняно з групою з експериментальним атеросклерозом без лікування.

Проведені субмікроскопічні дослідження щитоподібної залози тварин з експериментальним атеросклерозом та при його лікуванні геном аполіпопротеїном Е встановили неоднорідність змін тироцитів у складі фолікулів органу. В частині фолікулів, переважно більших за площею, тироцити у складі стінки мали продовгувату форму та були невисокі. Ядра таких клітин мали видовжену, еліпсоподібну форму, проте їх ультраструктура краща, ніж у тироцитах щитоподібної залози тварин з експериментальним атеросклерозом без корекції. Наявні невеликі інвагінації каріолеми, між внутрішньою і зовнішньою ядерними мембранами спостерігався вузький перинуклеарний простір. У каріоплазмі переважав еухроматин, наявні скупчення гранул рибосомального типу. В цитоплазмі клітин спостерігали небагато органел, але вони краще збережені, ніж у тироцитах щитоподібної залози нелікованих тварин. Канальці гранулярної ендоплазматичної сітки нечисельні, короткі, локально потовщені. Полісом і вільних рибосом також небагато. Мітохондрії були переважно округлої форми, невеликі, з помірно осміофільним матриксом і нечисельними кристами. Диктіосоми комплексу Гольджі виявлялися рідко. У їх складі були короткі цистерни, окремі вакуолі і міхурці. Апікальна ділянка плазмолеми мала мало мікроворсинок і вони невисокі. У частині фолікулів, які середні і невеликі за розмірами, тироцити мали прямокутну або квадратну форму. У них наявні ядра округлої форми з чіткими контурами каріолеми, у каріоплазмі переважає еухроматин і спостерігалися невеликі ядерця. У цитоплазмі тироцитів помірна щільність органел, канальці гранулярної ендоплазматичної сітки нечисельні, розширені як і цистерни комплексу Гольджі. Частина мітохондрій гіпертрофована, мала видовжену або округлу форму, помірної електронної щільності матрикс та чіткі кристи. В цитоплазмі були розташовані невеликі первинні лізосоми і поодинокі фагосоми. На апікальній поверхні таких тироцитів спостерігалося багато мікроворсинок. У таких фолікулах тироцити відмежовані від ендотелію гемокапілярів відносно рівною мірою, нешироκою базальною мембраною. Просвіти кровоносних капілярів залежно від площі перерізу можуть бути різні. Переважно вони нешироκі, але у ядерновмістній ділянці цитоплазми ендотеліоцити випинають у просвіт, що зменшує його. У багатьох ділянках

органу в умовах лікування субмікроскопічна організація кровоносних капілярів подібна до структурної організації їх у інтактних тварин. В їх нешироких просвітах спостерігалися формені елементи крові. Видовженої форми ендотеліоцити мали у парануклеарній частині цитоплазми небагато органел, вони були невеликі, витончена цитоплазматична ділянка включали фенестри, піноцитозні міхурці і окремі вакуолі. Така структурна організація кровоносних капілярів щитоподібної залози в умовах корекції експериментального атеросклерозу геном свідчить про покращення транскапілярних обмінних процесів порівняно з нелікованими тваринами.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі за допомогою комплексу методів (гістологічних, гістохімічних, морфометричних, електронномікроскопічних, біохімічних, функціональних) викладено теоретичне узагальнення і нове вирішення наукового завдання щодо встановлення особливостей морфофункціонального стану щитоподібної залози щурів при експериментальному атеросклерозі та при його генній корекції. Результати проведених досліджень експериментально обґрунтовують доцільність використання гену аполіпопротеїна Е для корекції патологічного стану щитоподібної залози.

1. При експериментальному атеросклерозі морфологічно встановлений гіпофункціональний стан щитоподібної залози щурів. Стінка більшості фолікулів утворена невисокими, плоскої форми тироцитами, їх колоїд щільний, без резорбційних вакуолей. У цитоплазмі більшості тироцитів порушується структура ядра і органел, а в цитоплазмі ендотеліоцитів кровоносних капілярів мало піноцитозних міхурців та фенестр.

2. Експериментальний атеросклероз призводить до змін морфометричних параметрів щитоподібної залози щурів: зростає маса органу у 2,97 рази; його індекс у 3,8 рази; збільшення площі фолікулів у 2,8 рази, площі колоїду у 4,05 рази, об’єму фолікулів у 1,2 рази та індексу накопичення колоїду у 1,9 рази; зменшувалася висота тироцитів у 1,9 рази і його площа - у 2,08 рази, площа фолікулярного епітелію - у 1,8 рази та фолікулярно-колоїдний індекс - у 1,4 рази, що відображає гіпофункційний стан органу.

3. Реорганізація кровоносних судин щитоподібної залози тварин при експериментальному атеросклерозі проявляється збільшенням зовнішнього діаметру артерій на 91 %, товщини їх стінки судин на 60,9 %, площі поперечного перерізу на 60,1 % та індексу Вогенворта – в 3 рази; зменшення площі просвіту на 14,8 % і внутрішнього діаметру на 66,9 % у порівнянні з показниками інтактних тварин.

4. При використанні гену аполіпопротеїна Е для корекції патологічних

змін щитоподібної залози за умов експериментального атеросклерозу, встановлена статистично значима, але дещо різна ефективність у режимі профілактики та у режимі лікування. Середнє значення площі просвіту артерій збільшується відповідно на 91,6 % і на 65 %; товщина їх стінки зменшується на 88 % у порівнянні з показниками тварин з експериментальним атеросклерозом. Середнє значення площі фолікулів зменшується відповідно у 2 рази та у 1,5 рази, висота тироциту збільшується у 1,7 рази та у 1,5 рази, фолікулярно-колоїдний індекс зростає у 1,5 рази і у 1,02 рази. Відбувається зменшення індексу накопичення колоїду у 1,6 рази і у 1,2 рази у порівнянні з показниками тварин з експериментальним атеросклерозом.

5. Навантаження холестерином призводить до порушення ліпідного спектру сироватки крові щурів, що проявляється зростанням рівнів загального холестерину у 3,2 рази, загальних ліпідів у 1,7 рази, β-ліпопротеїнів у 12,5 рази та індексу атерогенності у 7,3 рази. Відбувається зниження концентрації - α-ліпопротеїнів у 1,4 рази порівняно з даними показниками у інтактних тварин. Рівень вільного тироксину знижується у 4 рази, вільного трийодтироніну у 1,5 рази та збільшується рівень тиреотропного гормону у 2,4 рази, порівняно з групою інтактних тварин.

6. Введення гену аполіпопротеїна Е в режимі профілактики викликає наступні зміни ліпідного спектру сироватки крові щурів: зниження концентрації загального холестерину у 1,4 рази, загальних ліпідів у 1,1 рази, β-ліпопротеїнів у 1,6 рази, індексу атерогенності у 2 рази і збільшення рівня α-ліпопротеїнів у 1,3 рази, порівняно з даними показниками у тварин з експериментальним атеросклерозом без лікування. Рівень вільного тироксину збільшується у 1,97 рази, вільного трийодтиронину у 1,35 рази і знижується рівень тиреотропного гормону у 2,1 рази, порівняно з даними показниками у тварин з експериментальним атеросклерозом без лікування.

Введення гену аполіпопротеїна Е з лікувальною метою викликає наступні зміни ліпідного спектру сироватки крові щурів: зниження концентрації загального холестерину у 3,3 рази, загальних ліпідів у 5,1 рази, β-ліпопротеїнів у 3,7 рази, індексу атерогенності у 1,3 рази, рівня тригли церидів у 1,2 рази та пре-β-ліпопротеїнів у 1,2 рази, порівняно з даними показниками у тварин з експериментальним атеросклерозом без лікування. Рівень вільного тироксину збільшується у 1,2 рази, вільного трийодтиронину у 1,17 рази і знижується рівень тиреотропного гормону у 1,4 рази, порівняно з даними показниками у тварин з експериментальним атеросклерозом без лікування.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Піскун І.І. Біохімічне дослідження особливостей ліпідного обміну і активності щитоподібної залози при експериментальному атеросклерозі і його корекції / І.І. Піскун // Клінічна та експериментальна фармакологія . - 2010. - С. 326 - 328.

2. Костюк Г.Я. Особливості структури і функції щитоподібної залози при експериментальному атеросклерозі / Г.Я.Костюк, І.І.Піскун // Вісник морфології. - 2010. - № 16 (1). - С. 90-93. *(Здобувачем проведено пошук наукової літератури, проведено експеримент, зроблено аналіз і узагальнення даних та написання роботи, підготовлено до друку матеріал).*

3. Піскун І.І. Ультраструктурна організація щитоподібної залози при експериментальному атеросклерозі та його корекції / І.І.Піскун, Г.Я.Костюк // Вісник проблем біології і медицини. - 2011. - Вип. 2, Т. 2. - С. 214-216.

4. Піскун І.І. Морфофункціональні зміни щитоподібної залози при генної корекції експериментального атеросклерозу / І.І. Піскун / Вісник морфології. - 2012. - № 1 (Т. 18). - С. 88-90.

5. Пат. [19] UA 66623 [13]U, Україна, [51]МПК G09B 23/28 (2006.01). Спосіб профілактики гіпофункції щитоподібної залози при експериментальному атеросклерозі / І.І.Піскун, В.М. Істошин, Г.Я.Костюк ; заявник та патентовласник ВНМУ ім. М.І.Пирогова. - № U 201107784 ; заявл. 20.06.2011 ; опубл. 10.01.2012, Бюл. № 1. - 2 с. *(Здобувачем проведено пошук наукової літератури, проведено експеримент, зроблено аналіз і узагальнення даних, написання роботи, підготовлено до друку матеріал).*

6. Зміни ліпідного спектра крові при експериментальному атеросклерозі та його корекції / Р.П.Піскун, А.В.Білошицька, Г.С.Берегеля [та ін.] // Вісник Вінницького національного медичного університету. - 2008. - № 12 (1) - С. 243 - 244. *(Здобувачем проведено пошук наукової літератури, проведено експеримент, зроблено аналіз і узагальнення даних та написання роботи, підготовлено до друку матеріал).*

7. Піскун І.І. Стан щитоподібної залози при експериментальному атеросклерозі / І.І.Піскун // Український морфологічний альманах. – 2008. - №1. – С. 210-211.

8. Піскун І.І. Досвід використання гена АРО-Е для корекції змін щитоподібної залози при експериментальному атеросклерозі / І.І.Піскун // Журнал академії медичних наук України. - 2010. - Т. 16., додаток. - С. 146-147.

9. Генна терапія в корекції морфогенезу експериментального атеросклерозу / Р.П.Піскун, А.В.Білошицька, Н.М.Мрих [та ін.] // Український науково-медичний молодіжний журнал. - 2011. - № 4. - С. 77. *(Здобувачем*

проведено пошук наукової літератури, проведено експеримент, зроблено аналіз і узагальнення даних та написання роботи, підготовлено до друку матеріал).

10. Корекція морфофункціональних змін внутрішніх органів щурів при експериментальному атеросклерозі / Р.П.Піскун, А.В.Білошицька, І.І.Піскун, О.А.Ромашкіна // Фармакологія та лікарська токсикологія. Науково медичне практичне видання. - 2011. - № 5(24). - С. 249 - 250. *(Здобувачем проведено пошук наукової літератури, проведено експеримент, зроблено аналіз і узагальнення даних та написання роботи, підготовлено до друку матеріал).*

11. Піскун Р.П. Масометричні дані печінки та щитоподібної залози при експериментальному атеросклерозі / Р.П.Піскун, А.В.Білошицька, І.І.Піскун // Прикладні аспекти морфології експериментальних і клінічних досліджень : зб. мат. наук.-практ. конф. - 2008. - С. 105-107. *(Здобувачем проведено пошук наукової літератури, проведено експеримент, зроблено аналіз і узагальнення даних та написання роботи, підготовлено до друку матеріал).*

12. Пискун И.И. Морфофункциональные особенности экспериментального гипотиреоза / И.И.Пискун // Физиология и здоровье человека : научные труды II съезда физиологов СНГ. - 2008. - С. 152- 153.

13. Изучение эффективности генной терапии при атеросклерозе / Р.П.Пискун, Н.Н.Мрих, И.И.Пискун, Т.И.Шевчук // Человек и лекарство. Краснодар-2008 : тез. докл. - 2008. - С. 68 - 69. *(Здобувачем проведено пошук наукової літератури, проведено експеримент, зроблено аналіз і узагальнення даних та написання роботи, підготовлено до друку матеріал).*

14. Морфофункціональне дослідження ефективності генної терапії при експериментальному атеросклерозі / А.В.Білошицька, Р.П.Піскун, С.М.Горбатюк [та ін.] / Фактори експериментальної еволюції організмів : мат. V Міжнар. наук. конф. - 2009. - Т. 7. - С. 298-303. *(Здобувачем проведено пошук наукової літератури, проведено експеримент, зроблено аналіз і узагальнення даних та написання роботи, підготовлено до друку матеріал).*

15. The characteristic of lipid spectr of blood serum in experimental atherosclerosis and at gene therapy» / Raisa Piskun, Alina Biloshycka, Valerij Istoshyn [et al.] // Annales Universitatis Mariae Curie-Sklodowska, Lublin - Polonia. - 2009. - Vol. XXI. - № 34. - P. 207 - 209. *(Здобувачем проведено пошук наукової літератури, проведено експеримент, зроблено аналіз і узагальнення даних та написання роботи, підготовлено до друку матеріал).*

16. Піскун І.І. Субмікроскопічні зміни мікроциркуляторного русла щитоподібної залози при атеросклерозі в експерименті / І.І.Піскун // Морфологічні аспекти мікроциркуляції в нормі та патології : мат. наук.-практ. конф. - 2011. - С. 128-130.

17. Особливості генної регуляції атеросклеротичних змін артеріального

судинного русла в експерименті / Р.П.Піскун, А.В.Білошицька, Н.М.Гринчак, І.І.Піскун [та ін.] // Механізми фізіологічних функцій в експерименті та клініці : тези доп. - 2011. - С. 58. *(Здобувачем проведено пошук наукової літератури, проведено експеримент, зроблено аналіз і узагальнення даних та написання роботи, підготовлено до друку матеріал).*

18. Вивчення атерозахисних властивостей гену апоЕ на судинне русло в експерименті / Р.П.Піскун, А.В.Білошицька, Н.М.Гринчак, І.І.Піскун [та ін.] // Матеріали І-го Українсько-Іорданського міжнародного конгресу. - 2011. - С. 8 - 9. *(Здобувачем проведено пошук наукової літератури, проведено експеримент, зроблено аналіз і узагальнення даних та написання роботи, підготовлено до друку матеріал).*

19. Піскун І.І. Особливості генної профілактики гіпофункції щитоподібної залози при експериментальному холестериновому атеросклерозі / І.І.Піскун // Сучасні проблеми атеросклерозу – від гіпотез до фактів : мат. наук.-практ. конф. - 2012. - С. 31.

АНОТАЦІЯ

Піскун І.І. Морфофункціональна характеристика щитоподібної залози при експериментальному атеросклерозі та за умов генної терапії. – На правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.03.01 – нормальна анатомія. - Вінницький національний медичний університет імені М.І.Пирогова МОЗ України, Вінниця, 2012.

Дисертація присвячена вивченню структурно-функціональних змін щитоподібної залози при експериментальному атеросклерозі та за умов генної терапії. Експериментальний атеросклероз викликає структурну перебудову щитоподібної залози та її компонентів: збільшення об’єму та площі фолікулів, збільшення площі колоїду та індексу накопичення колоїду, зменшення середньої висоти і площі тироцитів, площі фолікулярного епітелію та фолікулярно-колоїдного індексу; потовщення стінок кровоносних судин щитоподібної залози і звуження просвіту; зменшення рівня тироксину і трийодтироніну та збільшення рівня тиреотропного гормону.

Застосування гену аполіпопротеїна Е з метою профілактики експериментального атеросклерозу призводить до зменшення товщини стінки артерій, розширення просвіту судин, зменшення об’єму і площі фолікулів, площі колоїду та індексу накопичення колоїду, збільшення середньої висоти і площі тироциту, площі фолікулярного епітелію та фолікулярно-колоїдного індексу, порівняно з групою експериментального атеросклерозу без корекції. Під дією гену з метою лікування відмічається тенденція до нормалізації всіх вище

означених показників та незначне зменшення товщини стінки судин і збільшення їх просвіту.

Ключові слова: щитоподібна залоза, експериментальний атеросклероз, генна терапія, морфологічні зміни.

АННОТАЦИЯ

Пискун И.И. Морфофункциональная характеристика щитовидной железы при экспериментальном атеросклерозе и его генной терапии. – На правах рукописи.

Диссертация на соискание научной степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.01 - нормальная анатомия. - Винницкий национальный медицинский университет имени Н.И.Пирогова МЗ Украины, Винница, 2012.

В диссертации представлены результаты изучения структурно-функциональных особенностей щитовидной железы при экспериментальном атеросклерозе и его терапии геном аполипопротеина Е.

Работа выполнена на белых лабораторних крысах-самцах репродуктивного возраста. Все подопытные крысы были разделены на 5 групп: 1 группа – интактные; 2 група – крысы, которым вводили 4(6)Метил-2-тиоурацил в дозе 12 мг/кг для угнетения функции щитовидной железы. Крысам 3, 4 и 5 групп в течение 30 дней моделировали экспериментальный атеросклероз: холестерол вводили внутрижелудочно с помощью зонда с оливой и дополнительно 4(6)Метил-2-тиоурацил. Животным 4 группы ген аполипопротеин Е вводили в 1-й день эксперимента внутримышечно по 50 мкг на крысу, а животным 5 групы ген вводили на 15-й день эксперимента в той же дозе.

Результаты макроморфометрического исследования щитовидной железы крыс в группе с экспериментальным атеросклерозом показали, что масса щитовидной железы крыс с экспериментальным атеросклерозом без лечения - 0,117±0,0041 г, а ее индекс - 0,00073±0,000032, по сравнению с массою щитовидной железы интактных крыс - 0,039±0,0014 и ее индексом - 0,00019±0,000014.

Определение функционального состояния щитовидной железы в группе экспериментального атеросклероза без лечения показало, что в сыворотке крови крыс уровень свободного тироксина уменьшился до 0,27±0,06 пмоль/л, уровень содержания свободного трийодтиронина снизился до 1,84±0,10 пмоль/л, уровень тиреотропного гормона увеличился до 0,047±0,005 ммоль/л.

Анализ микроморфометрических исследований параметров щитовидной железы крыс с экспериментальным атеросклерозом без лечения показал, что средняя высота тироцита - 5,27±0,09 мкм, средняя площадь тироцита животных - 67,31±1,92 мкм^2, площадь фолликула - 6196,8±236,67 мкм^2, объем фолликула -

56229±213,8 мкм^3, площадь коллоида фолликула - 3972,05±187,58 мкм^2, площадь фолликулярного эпителия - 2224,74±49,09 мкм^2, фолликулярно-коллоидный индекс равен - 1,56±0,02, а индекс накопления коллоида у животных с экспериментальным атеросклерозом без лечения - 5,56±0,81.

Микроморфометрическое исследование сосудов щитовидной железы крыс показало, что площадь поперечного сечения артерий у животных с экспериментальным атеросклерозом без лечения увеличивается до 786,48±21,72 мкм^2, площадь просвета сосудов - 107,76±0,84 мкм^2, наружный диаметр артерий - 47,05±0,53 мкм, внутренний диаметр артерий - 16,04±0,95 мкм, толщина стенки артерий щитовидной железы составляет 15,5±0,54 мкм, площадь стенки артерий - 677,07±22,10 мкм^2. Функциональный показатель тонуса сосудов - индекс Вогенворта составляет 628,93±17,81.

Электронномикроскопические исследования щитовидной железы крыс при экспериментальном атеросклерозе без лечения установили изменения, характерные для гипофункции органа. Большинство фолликулов имеет стенку, образованную низкими по высоте, витянутой формы тироцитами. Ядра клеток выглядят уменьшенными, имеют неправильную форму за счет инвагинаций кариолеммы. Кариоплазма включает электроннoплотные участки гетерохроматина, небольшие осмиофильные ядрышки наблюдаются редко, ядерные поры одинокие.

Ген аполипопротеин Е, использованный для коррекции патологических изменений щитовидной железы в условиях экспериментального атеросклероза, проявляет разную эффективность в режиме профилактики и режиме лечения. Площадь просвета артерий увеличивается на 91,6 % и на 65 % при профилактическом введении гена и при введении гена с лечебной целью. Толщина стенки уменьшается соответственно на 88 % и на 73,9 %. Площадь фолликула уменьшается в 2 раза в группе профилактики и в 11,5 раза в группе лечения геном, по сравнению с группой экспериментального атеросклероза без коррекции. Увеличивается высота тироцита в 1,7 раза в группе животных при профилактическом введении гена и в 1,5 раза в группе животных, которым ген аполипопротеин Е вводили с лечебной целью. Фолликулярно-коллоидный индекс увеличивается соответственно в 1,5 раза и в 1,02 раза. Отмечается уменьшение индекса накопления коллоида в 1,6 раза и в 1,2 раза соответственно при профилактическом введении гена аполипопротеина Е и при введении гена с целью лечения.

Ключевые слова: щитовидная железа, экспериментальный атеросклероз, генная терапия, морфологические изменения.

ANNOTATION

Piskun I.I. Morphofunctional characteristics of thyroid gland in experimental atherosclerosis and in conditions of gene therapy. – As Manuscript.

Dissertation work for reaching the scientific degree of Candidate of Medical Science in the speciality 14.03.01 – normal anatomy. – National Pirogov Memorial Medical University, of the Ministry of Health of Ukraine. – Vinnitsya, 2012.

Dissertation work is dedicated to study of structural and functional changes of thyroid gland in experimental atherosclerosis and in conditions of gene correction. Experimental atherosclerosis causes structural rebuilding in thyroid gland and its components: increase of volume and area of folliculus, increase of area of colloid and accumulation index of colloid, decrease of average height and area of thyrocytes, area of follicular epithelium and follicular-colloid index; thickening of walls of blood vessels of thyroid gland and luminal narrowing; decrease of level of thyroxine and triiodthyronine and increase of level of thyroid-stimulating hormone.

Gene apolipoprotein E usage for prevention of experimental atherosclerosis causes the reduction of thickness of walls of the arteries, luminal widening of blood vessels, decrease of volume and area of folliculus, area of colloid and accumulation index of colloid, increase of average height and area of thyrocytes, area of follicular epithelium and follicular-colloid index. Gene usage for treatment of atherosclerosis causes tendency to normalization of all characteristics and small decrease of thickness of walls of blood vessels and increase of its lumina.

Key words: thyroid gland, experimental atherosclerosis, gene therapy, morphological changes.

Підписано до друку 17.09.2012 р. Замовл. № 692.
Формат 60х90 1/16 Ум. друк. арк. 0,8 Друк офсетний.
Тираж 100 примірників.

Вінниця. Друкарня ВНМУ ім. М.І.Пирогова, Пирогова, 56.