

DOI: 10.31393/reports-vnmedical-2021-25(1)-04

УДК: 612.44.014:616.441-71-089

## МОРФОГЕНЕЗ ЩИТОПОДІБНОЇ ЗАЛОЗИ ЩУРІВ РАНЬОГО ВІКУ ПІСЛЯ ПРЕНАТАЛЬНОЇ ДІЇ ДЕКСАМЕТАЗОНУ

Федосєєва О. В.

Запорізький державний медичний університет (просп. Маяковського, 26, м. Запоріжжя, Україна, 69000)

Відповідальний за листування:  
e-mail: fedoseeva.ov.1@gmail.com

Статтю отримано 28 грудня 2020 р.; прийнято до друку 01 лютого 2021 р.

**Анотація.** Метою роботи було встановлення особливостей морфогенезу щитоподібної залози щурів у ранньому віці постнатального онтогенезу в нормі та після пренатальної дії дексаметазону. Матеріалом дослідження була щитоподібна залоза щурів (54 тварини) лінії Вістар у віці від 1 до 14 доби постнатального розвитку, яким експериментально оперативною, крізьоболонково, внутрішньоплідно вводили розчин дексаметазону в дозі 0,05 мл у розведенні 1:40 на 18 добу датованої вагітності; групі контролю - 0,05 мл 0,9% NaCl. Зрізи фарбували гематоксиліном та еозином, азаном, імуногістохімічно (кі-67). Статистично використовували параметричний t-критерій Ст'юдента, нормальність розподілу перевіряли з використанням критерію Шапіро-Уїлка, достовірність не менше 95%, при  $p < 0,05$ . У тварин 1-3 доби експериментально пренатально експонованих дексаметазоном залоза була більше функціонально збуджена: збільшувалася кількість резорбційних вакуолей у колоїді, який був щільний, але висота тироцитів майже не відрізнялося від контролю. Було більше фолікулів безколоїдного типу з кі-67-позитивними клітинами. На 7-му добу постнатального періоду структура залози змінювалася у напрямку збільшення проявів процесу блокування виведення тироїдних гормонів, але синтез та виведення компонентів у порожнину фолікулів зберігався. По всьому органу фолікули збільшувалися. На 11 добу постнатального життя у щитоподібних залозах тварин, пренатально експонованих дексаметазоном, кількість мікрофолікулів стала меншою, а частина проліферуючих кі-67-позитивних клітин у стінці фолікулів несуттєво зменшувалася у порівнянні з попереднім терміном, але у порівнянні з контролем проліферуючих клітин було менше у 1,8 разів. На 14 добу щитоподібна залоза експериментальних тварин характеризувалася мозаїчним розташуванням крупних фолікулів зі сплосченими тироцитами. Таким чином, морфогенез щитоподібної залози за гіпофункціональним типом після пренатальної дії дексаметазону у щурів раннього віку свідчить про адаптогенну компенсаторну реакцію та морфо-функціональну незрілість органу в цей період, що може бути підґрунтям до провокації збереження такого морфогенетичного шляху під дією стресорних факторів для організму.

**Ключові слова:** проліферація, фолікули щитоподібної залози, тироцити, дексаметазон, щури, тироглобулін.

### Вступ

Актуальність проблеми захворювань щитоподібної залози у дітей та підлітків в Україні існує протягом тривалого часу. Патологія щитоподібної залози протягом останніх 20 років посідає перше місце серед ендокринних хвороб у дітей в Україні, і саме вона формує картину поширеності всіх ендокринних захворювань, оскільки займає загалом 58,0% їх структури, головним чином за рахунок порушень процесів морфогенезу органу та імунно-нейро-ендокринного дисбалансу [5, 13]. Дія гормонів щитоподібної залози різноманітно спрямована на всі обмінні процеси, функції багатьох органів і тканин, в тому числі на розвиток плода, процеси росту і диференціювання тканин [8, 10]. Щитоподібна залоза має високу чутливість до екзо- і ендогенних впливів і здатність до морфологічної перебудови тканини [2, 9, 12].

Дексаметазон є потужним синтетичним глюкокортикоїдом, який пригнічує імунну відповідь та вже давно використовується в протоколах лікування багатьох метаболічних і запальних патологічних процесах. Його ефективність перевищує кортизол у 20-30 разів. Водночас, він широко використовується у лікуванні вагітних із ризиком передчасних пологів, оскільки прискорює дозрівання плода [4, 11]. Рядом вчених експериментально доведено, що в результаті впливу глюкокортикоїдів на

організм тварин у постнатальному онтогенезі різних вікових періодів у щитоподібній залозі визначалися морфологічні ознаки, які свідчать про зниження її функціональної активності [1, 3, 6]. Не зважаючи на велику кількість проведених досліджень з приводу впливу глюкокортикоїдів на плід [7, 14], майже відсутні дані з пренатального впливу глюкокортикоїдів на процеси морфогенезу щитоподібної залози у постнатальному періоді життя. Отже питання щодо пренатального впливу дексаметазону на процеси морфогенезу щитоподібної залози у постнатальному періоді життя є морфологічно не вирішеним, і потребує подальших наукових уточнень, що є вкрай важливим експериментальним підґрунтям для вдосконалення тактики ведення новонароджених та дітей неонатологами, педіатрами, ендокринологами.

Мета роботи - встановлення особливостей морфогенезу щитоподібної залози щурів у ранньому віці постнатального онтогенезу в нормі та після внутрішньоутробної дії дексаметазону.

### Матеріали та методи

Об'єктом дослідження стали щитоподібні залози 108 білих лабораторних щурів лінії Wistar з 1 по 21 добу життя. Тварин було отримано з віварію ПП "Біомодельсервіс"

м. Київ. Щурів утримували в умовах віварію в акрилових клітках об'ємом 300 см<sup>3</sup> по 4-5 тварини в кожній та вільним доступом до води на стандартному раціоні харчування. До і під час експерименту щури знаходились в однакових умовах: у віварії при t 20-25°C, вологості не більше 50%, об'ємі повітрообміну (витяг-приплив) 8:10, у світловому режимі день-ніч. Тварини за поведінкою та загальним станом були здорові. Умови догляду за тваринами відповідали нормам "Міжнародних рекомендацій для проведення медико-біологічних досліджень з використанням тварин". Також у роботі дотримувались правил та норм встановлених "Європейською конвенцією по захисту хребетних тварин, які використовуються в експериментальних і інших наукових цілях" (Страсбург, 18.03.86р.) та Закону України "Про захист тварин від жорстокого поводження" (від 21.02.2006 № 3447- IV, редакція від 09.12.2015, підстава 766-19).

Тварин, було розподілено та на 3 групи тварин: I група - інтактні щури; II група - контрольна, тваринам якої на 18 добу датованої вагітності черезматково, черезоболонково, підшкірно у міжлопаткову ділянку вводили 0,9% фізіологічний розчин в кількості 0,05 мл; III - експериментальна група, тваринам якої під час лапаротомії, шляхом крізьматкової, крізьоболонкової підшкірної ін'єкції у міжлопаткову ділянку було введено розчин дексаметазону в дозі 0,05 мл у розведенні 1:40 внутрішньоплідно на 18 добу датованої вагітності (патент України №112288). В експериментальних підгрупах використана допустима, загальноприйнята кількість тварин для статистичної обробки й отримання достовірних результатів - по 6 тварин.

Щитоподібну залозу з ділянкою трахеї вилучали на 1, 3, 7, 11, 14, 21 добу життя, фіксували в 10% розчині нейтрального забуференого формаліну протягом доби. Об'єкти заливали у парафінові блоки загальноприйнятим методом. Гістологічні зрізи товщиною 4 мкм забарвлювали гематоксиліном і еозином для оглядової світлової мікроскопії та проведення морфометрії, гістохімічно азаном для визначення щільності колоїду. Кількість клітин підраховували у гістологічних зрізах у стандартизованому полі зору мікроскопу при збільшенні об'єктива x40 (кількість клітин на 40000 мкм<sup>2</sup>) з подальшим обчисленням щільності розташування клітин на 1 мм<sup>2</sup>.

Імуногістохімічне дослідження виконано відповідно протоколу, рекомендованого до конкретного антитіла фірми виробника. Використовували моноклональні антитіла ki-67 (Ki-67) - для оцінки проліферативної активності, фірми Santa Cruz Biotechnology, Inc. із застосуванням методу непрямого забарвлення імунопероксидазою за допомогою кон'югованих HRP мишачих IgG-зв'язуючих білків, m-IgG<sub>κ</sub> BP-HRP, з подальшою інкубацією в субстраті пероксидази та суміші хромогену DAB-3-діамінобензидину тетрахлориду та дофарбовуванням ядер гематоксиліном Майєра, дегідратацією, просвітленням та заключенням у бальзам.

Результат розцінювали як позитивний при випаданні

солей хромогену у вигляді специфічної реакції (ядерна, цитоплазматична реакція залежно від локалізації антигену). Інтенсивність відкладення бензидинової мітки оцінювали в балах за наступною градацією: "0" - відсутня реакція, світло-жовте забарвлення; "1" - слабка реакція - світло-коричневе забарвлення; "2" - помірна реакція - коричневе забарвлення; "3" - інтенсивна реакція - темно-коричневе забарвлення. Проміжні відтінки позначали 0,5; 1,5 та 2,5 бали відповідно.

З метою контролю методу була проведена серія досліджень з використанням позитивних і негативних зразків, які слугували еталонами.

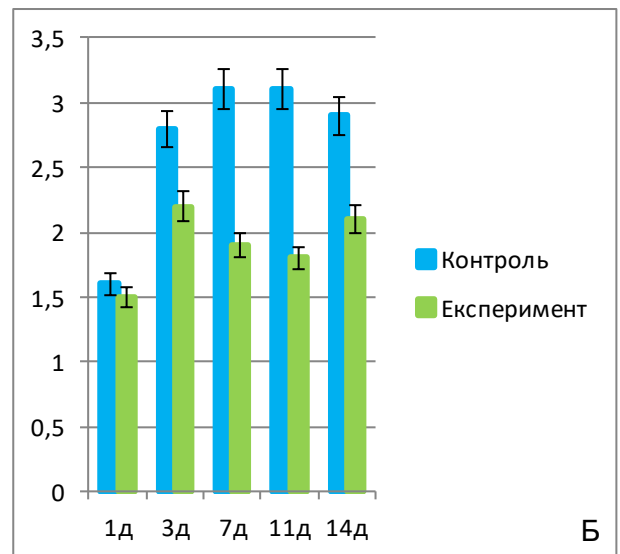
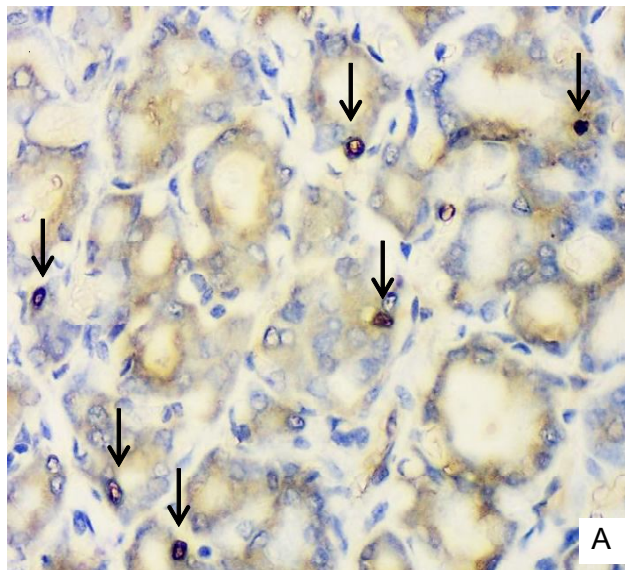
Морфометрію та фотодукаментацию досліджуваних об'єктів виконано з використанням мікроскопу "Primo Star" (Carl Zeiss, Німеччина) з використанням камери AxioCam, комплекс морфометричних досліджень виконували за допомогою програми Zeiss Zen (2011).

Статистичний аналіз отриманих результатів проводили за допомогою персонального комп'ютера на базі операційної системи Windows XP за допомогою статистичного пакету "Statistica for Windows 6.0" (StatSoftInc.), програма Excel (Microsoft Office, USA). Усі результати досліджень фіксували в журналах та протоколах первинної документації, а також з використанням електронних носіїв інформації. Гіпотезу про нормальність розподілу досліджуваних показників перевіряли з використанням критерію Шапіро-Уїлка. Обчислювали медіану, нижній та верхній квартилі, дані представляли у вигляді Me (Q1; Q3). Достовірність відмінностей між середніми оцінювали за допомогою параметричного t-критерію Ст'юдента при нормальному розподілі та вважали статистично значущими при рівні достовірності не менше 95%. Для всіх видів аналізу відмінності вважали достовірними при p<0,05.

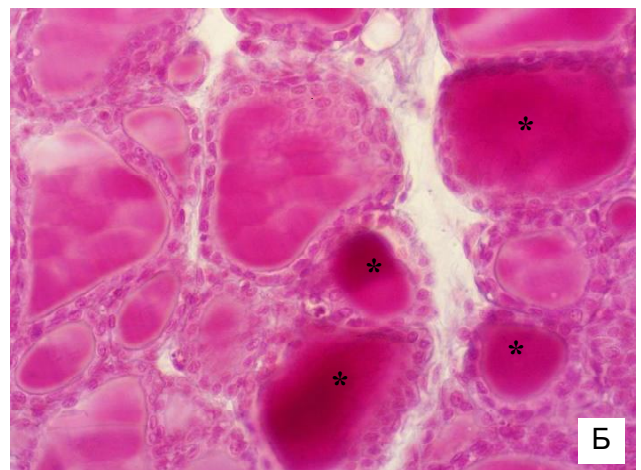
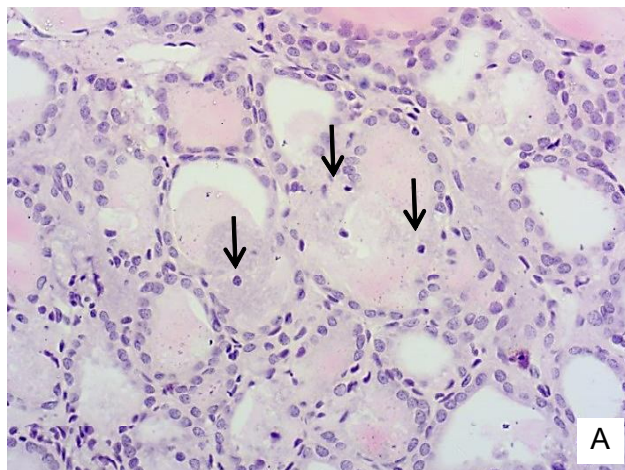
### Результати. Обговорення

Морфологічна будова щитоподібної залози новонароджених щурів 1-3 доби життя всіх досліджуваних груп була представлена залозистою паренхімою та сполучно-тканинною стромою з кровоносними та лімфатичними судинами та нервами. Вивчення мікропрепаратів щитоподібної залози тварин, експериментально пренатально експонованих дексаметазоном, виявило, що залоза тварин першої доби життя була дещо більше збуджена: збільшувалася кількість резорбційних вакуолей у колоїді, який у загальній масі був щільний. Висота тироцитів на першу добу життя становила 6,35 (5,31; 6,87) мкм, що майже не відрізнялося від контролю. У міжфолікулярних проміжках було більше фолікулів безколоїдного типу з ki-67-позитивними клітинами (рис. 1).

У цьому віці відмічається велика кількість світлих тироцитів у стінці фолікулів, виявляються ki-67-позитивні клітини. Вісь проліферації орієнтована паралельно базальній мембрані фолікула. Якщо в препаратах щитоподібної залози інтактних тварин можна було легко знайти епітеліальні проліферативні клітинні скупчення,



**Рис. 1.** Щитоподібна залоза щурів 3-ї доби життя, пренатально експонованих дексаметазоном. А - імуногістохімічна реакція з дофарбуванням гематоксиліном Майєра, ядерна експресія ki-67 проліферуючих тироцитів фолікулів. Збільшення: x400. Б - динаміка зміни співвідношення проліферуючих ki-67-позитивних тироцитів до загальної кількості тироцитів у стандартизованому полі зору мікроскопу у фолікулах щитоподібної залози тварин контрольної та експериментальної груп.



**Рис. 2.** Щитоподібна залоза щурів 7-ї доби життя, пренатально експонованих дексаметазоном. А - стрілками вказано десквамовані клітини у просвіті великих фолікулів з інвагінаціями стінки; забарвлення гематоксиліном та еозином. Б - зірочками позначено оптично щільний колоїд у фолікулах великого розміру пофарбованих азаном. Збільшення: x400.

то в залозах цього терміну тварин експериментальної групи вони були майже відсутні. На третю добу життя в щитоподібних залозах тварин експериментальної групи висота тироцитів становила 6,37 (5,35; 6,92) мкм, що в 1,1 рази було більше за значення контролю.

На 7-му добу постнатального життя структура залози змінювалася у напрямку збільшення проявів процесу блокування виведення тиреоїдних гормонів, але синтез і виведення компонентів у порожнину фолікулів зберігався. По всьому органу фолікули збільшувалися, а великі підкапсулярні фолікули навіть дещо деформувалися за рахунок появи інвагінацій, направлених у порожнину фолікулів. Середні значення висоти тироцитів таких фолікулів незрівнянно зменшувалися у порівнянні з контролем та їх медіана становила 6,05 (4,85; 6,98) мкм,

але зберігалася їх кубічна форма. У місцях інвагінацій форма клітин була кубічна та поодинокі призматична, в них візуалізувалися ki-67-позитивні клітини, вакуолі резорбції були відсутні, їх кількість була значно менша у порівнянні із щитоподібними залозами інтактних та контрольних тварин. Через тиждень після народження в щитоподібних залозах експериментальних тварин, експонованих дексаметазоном, виявлялося зменшення площі тиреоїдного епітелію. Це пояснюється тим, що висота клітин фолікулярного епітелію стає меншою, переважє кубічна та плоска форма тироцитів, циліндричні клітини зустрічаються рідко, переважно у фолікулах малого розміру. Виявлено збільшення площі колоїду у порівнянні з контролем у 1,6 разів (856 (797; 889,6) мкм<sup>2</sup>) за рахунок збільшення кількості великих та середніх

фолікулів, які містять щільний, густий колоїд і десквамовані клітини, з відсутністю вакуолізації колоїду (рис. 2).

На 11 добу постнатального життя у щитоподібних залозах тварин, пренатально експонованих дексаметазоном, підкапсулярно візуалізувалися великі фолікули зі сплосченими тироцитами, десквамованими клітинами та щільним колоїдом без вакуолей резорбції. У частині фолікулів, вистеленими кубічними тироцитами, колоїд був відсутній. Кількість мікрофолікулів стала меншою, а частина проліферуючих ki-67-позитивних клітин у стінці фолікулів не суттєво зменшувалася у порівнянні з попереднім терміном, але у порівнянні з контролем проліферуючих клітин було менше у 1,8 разів. У стінці фолікула значно більше зустрічалося світлих тироцитів, які, як правило, містили велике структуроване ядро, в якому візуалізувалося 2-3 ядерця. Висота тироцитів зменшувалася у порівнянні з контролем і становила 6,03 (3,55; 7,01) мкм і 6,72 (5,47; 6,93) мкм відповідно.

На 14 добу щитоподібна залоза експериментальних тварин характеризувалася тим, що мозаїчно складалася з крупних фолікулів зі сплосченими тироцитами. Зустрічалися ділянки паренхіми зі скупченнями маленьких фолікулів. Кількість світлих тироцитів збільшувалася у порівнянні з попереднім терміном та групами інтакту та контролю, що свідчить про диференціювання клітин у активно гормон-продукуючі. Наочно, цей процес є компенсаторною реакцією на морфологічні прояви гіпофункціонального стану щитоподібної залози, що корелюва-

ло із висотою тироцитів, медіана значень яких була 5,78 (3,38; 7,34) мкм, що в 1,2 рази було менше за значення контролю.

### Висновки та перспективи подальших розробок

1. Морфологічні ознаки функціональної напруженості щитоподібної залози у новонароджених тварин, експонованих пренатально дексаметазоном, які корелюють зі зниженням проліферативної активності, свідчать про функціональну компенсаторну реакцію з боку синтетичної та гормон-продукуючої функції, але і пригнічення процесів проліферації, незважаючи на легкі десквамативні прояви.

2. Морфогенез щитоподібної залози за гіпофункціональним типом після пренатальної дії дексаметазону у щурів раннього віку свідчить про адаптогенну компенсаторну реакцію та морфо-функціональну незрілість органу в цей період, що може бути підґрунтям до провокації збереження такого морфогенетичного шляху під дією стресорних факторів для організму.

У подальшому вважаємо за доцільне дослідити особливості морфогенезу щитоподібної залози щурів за умов пренатальної дії дексаметазону на більш пізніх термінах розвитку, оскільки це дасть повну картину компенсаторно-приспосувальних реактивних механізмів морфологічних перетворень у щитоподібній залозі за таких умов.

### Список посилань - References

- [1] Abdel Gawad, F. A., El-Shaarawy, E. A. A., Arsanyos, S. F., Abd El-Galil, T. I., & Awes, G. N. (2019). Can constant light exposure affect the thyroid gland in prepubertal male albino rats? *Histological and ultrastructural study. Folia Morphol (Warsz)*, 78(2), 297-306. DOI: 10.5603/FM.a2018.0073
- [2] Ahmed, R. G. (2016). Gestational dexamethasone alters fetal neuroendocrine axis. *Toxicology Letters*, 258, 46-54. doi: 10.1016/j.toxlet.2016.05.020
- [3] Ahmed, R. G. (2017). Letter: gestational dexamethasone may be at higher risk for thyroid disease developing peripartum. *Open Journal Of Biomedical & Life Sciences (Ojbili)*, 3(2), 01-06.
- [4] Asztalos, E. (2012). Antenatal Corticosteroids: A Risk Factor for the Development of Chronic Disease. *J. Nutrition Metab*, 2012, 930591. doi: 10.1155/2012/930591
- [5] Chukur, O. O. (2019). Динаміка захворюваності й поширеності патології щитоподібної залози серед дорослого населення України [Dynamics of morbidity and prevalence of thyroid pathology among the adult population of Ukraine]. *Вісник соціальної гігієни та організації охорони здоров'я України - Bulletin of social hygiene and health care organization of Ukraine*, 4, 19-25. <https://doi.org/10.11603/1681-2786.2018.4.10020>
- [6] Dawood, M., & Alkalby, J. (2020). Effect of treatment with dexamethasone on thyroid function in lactating female rats. *Basrah Journal of Veterinary Research*, 19(1), 331-345.
- [7] Elmahdi, B., Hassan, M., & El-Bahr, S. (2016). Effect of prednisolone on thyroid and gonadotrophic hormones secretion in male domestic rabbits. *Thyroid Research and Practice*, 13, 136. doi:10.4103/0973-0354.193135
- [8] Elsnosy, E., Shaaban, O. M., Abbas, A. M., Gaber, H. H., & Darwish, A. (2017). Effects of antenatal dexamethasone administration on fetal and uteroplacental Doppler waveforms in women at risk for spontaneous preterm birth. *Middle East Fertility Society Journal*, 22(1), 13-17. doi: 10.1016/j.mefs.2016.09.007
- [9] Fedosieieva, O. V. (2020). Morphogenesis of rat's thyroid gland in preweaning period after prenatal influence of staphylococcal toxoid. *World of Medicine and Biology*, 3(73), 230-234. doi: 10.26724/2079-8334-2020-3-73-230-234
- [10] Haram, K., Mortensen, J. H., Magann, E. F., & Morrison, J. C. (2017). Antenatal corticosteroid treatment: factors other than lung maturation. *The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine*, 30(12), 1437-1441. doi: 10.1080/14767058.2016.1219716
- [11] Moisiadis, V. G., & Matthews, S. G. (2014). Glucocorticoids and fetal programming part 1: outcomes. *Nat Rev Endocrinol.*, 10(7), 391-402. doi: 10.1038/nrendo.2014.73
- [12] Rizzo, L. F., Mana, D. L., & Serra H. A. (2017). Drug-induced hypothyroidism. *Medicina*, 77(5), 394-404.
- [13] Tkachenko, V. I., Maksimets, Ya. A., Vydubets, N. V., & Kovalenko, O. F. (2018). Аналіз поширеності тиреоїдної патології та захворюваності на неї серед населення Київської області та України за 2007-2017 рр. [Analysis of the prevalence of thyroid pathology and its incidence among the population of Kyiv region and Ukraine for 2007-2017]. *Міжнародний ендокринологічний журнал - International Journal of Endocrinology*, 3(14), 272-277.
- [14] Voloshin, N. A., Sapyanova, O. K., & Kireenkova, K. V. (2012). Вікові зміни щитоподібної залози білих щурів після дії гідрокортизону на організм [Age changes in thyroid gland white rats under influence on the organism hydrocortisone]. *Український медичний альманах - Ukrainian Medical Almanac*, 15(6), 190-191.

---

**MORPHOGENESIS OF THE THYROID GLAND OF RATS OF THE EARLY PERIOD AFTER THE PRENATAL ACTION OF DEXAMETHASONE**

**Fedosieieva O. V.**

**Annotation.** *The aim of the study was to establish the features of the morphogenesis of the thyroid gland of rats at an early age of normal postnatal ontogenesis and after prenatal exposure to dexamethasone. The study material was the thyroid gland of rats (54 animals) of the Wistar line at the age of 1 to 14 days of postnatal development, which experimentally operatively, through the membrane, intrauterinely injected a solution of dexamethasone at a dose of 0.05 ml at a dilution of 1:40 on the 18th day of pregnancy; control group - 0.05 ml of 0.9% NaCl. Sections were stained with haematoxylin and eosin, azan, immunohistochemically (ki-67). Statistically used Student's parametric t-test, the normality of the distribution was checked using the Shapiro-Wilk test, the reliability is not less than 95%, the reliability at  $p < 0.05$ . In animals experimentally prenatally exposed to dexamethasone for 1-3 days, the gland was more functionally excited: the number of resorption vacuoles in the colloid, which was dense, increased, but the height of thyrocytes was almost no different from the control. There were more colloid-type follicles with ki-67-positive cells. On the 7th day of postnatal life, the structure of the gland changed in the direction of increasing the manifestations of the process of blocking the excretion of thyroid hormones, but the synthesis and excretion of components into the follicle cavity was preserved. Follicles increased throughout the body. On the 11th day of postnatal life in the thyroid glands of animals prenatally exposed to dexamethasone, the number of microfollicles decreased, and the proportion of proliferating ki-67-positive cells in the follicle wall decreased insignificantly compared to the previous period, but compared to the control of proliferating cells was less than 1.8 times. On 14th day, the thyroid gland of experimental animals was characterized by a mosaic arrangement of large follicles with flattened thyrocytes. Thus, the morphogenesis of the thyroid gland by hypofunctional type after prenatal exposure to dexamethasone in young rats indicates an adaptogenic compensatory response and morpho-functional immaturity of the organ during this period, which may be the basis for provoking the preservation of such morphogenetic factors under the influence of stressors.*

**Keywords:** *proliferation, thyroid follicles, thyrocytes, dexamethasone, rats, thyroglobulin.*

---