

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ОДЕСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

На правах рукопису

МЕЩЕРЯКОВА НАТАЛЯ ВОЛОДИМИРІВНА

УДК 616.441-008.6:575.224.232:616-002.17

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ МЕХАНІЗМІВ ВПЛИВУ
ГІПЕР- ТА ГІПОТИРЕОЗУ НА РЕМОДЕЛЮВАННЯ ТКАНИН

14.03.04 – патологічна фізіологія

Дисертація на здобуття наукового
ступеня кандидата медичних наук

Науковий керівник:
Запорожан Валерій Миколайович
академік НАМН України,
доктор медичних наук, професор

Одеса – 2013

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ	5
ВСТУП	6
РОЗДІЛ 1 СУЧАСНИЙ СТАН ПРОБЛЕМИ	
1.1 Біосинтез і метаболізм тиреоїдних гормонів	12
1.2 Механізм дії: генетичний та негенетичний	13
1.3 Вплив тиреоїдних гормонів на розвиток ремоделювання тканин	18
1.3.1 Розвиток фіброзу в тканинах під впливом тиреоїдних гормонів	20
1.3.2 Роль метилування ДНК у фіброгенезі, який був викликаний гормонами щитоподібної залози	24
1.4 Характер гіпертрофії міокарда при гіпотиреозі та тиреотоксикозі	27
1.5 TR α 1: переключення на функціонування за фетальним типом	34
1.5.1 TR α 1: зміни у постнатальному функціонуванні	35
РОЗДІЛ 2 МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ	
2.1 Методи моделювання гіпер- та гіпотиреозу у лабораторних тварин	37
2.1.1 Розподілення на групи	3
2.1.2 Сполуки та реактиви, використані в роботі	39
2.1.3 Бази	39
2.2 Визначення вмісту гормонів у крові	
2.2.1 Методика визначення вільного трийодотироніну в крові	40
2.2.2 Методика визначення вільного тироксину в сироватці крові	41
2.2.3 Методика визначення тестостерону в сироватці крові	42
2.2.4 Методика визначення прогестерону в сироватці крові	43
2.2.5 Методика визначення естрадіолу в сироватці крові	44
2.3 Визначення активності ДНК-метилтрансфери	45
2.4 Патоморфологічне дослідження органів	47
2.4.1 Морфометричне дослідження тканин	48
2.5 Методи статистичного аналізу	50

РОЗДІЛ 3 РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ

3.1 Динаміка змін біохімічних показників крові щурів із відтвореним гіпертиреозом та гіпотиреозом	52
3.1.1 Рівень гормонів у крові самиць щурів з експериментальним гіпертиреозом та гіпотиреозом	52
3.1.2 Рівень гормонів у крові самців щурів з експериментальним гіпертиреозом та гіпотиреозом	54
3.1.3 Характер зміни активності ДНК-метилтрансферази у щурів з гіпер- та гіпотиреозом в залежності від статі	55
3.2 Зміна маси тіла щурів при гіпертиреозі та гіпотиреозі	58
3.3 Зміна маси органів щурів за умов гіпер- та гіпотиреозу	60
3.4 Патоморфологічне дослідження органів	63
3.4.1 Міокард	63
3.4.2 Печінка	72
3.4.3 Нирки	81
3.4.4 Сім'яники	90
3.4.5 Матка	95
3.5 Морфометричне дослідження органів	101

РОЗДІЛ 4 АНАЛІЗ І УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

4.1 Рівень гормонів щитоподібної залози та статевих гормонів при експериментальному гіпер- та гіпотиреозі	110
4.2 Патоморфологічні зміни в органах	115
4.2.1 Патофізіологічні механізми запалення при гіпертиреозі та гіпотиреозі	116
4.2.2 Патофізіологічні механізми розвитку артеріальної гіпертензії під впливом гіпертиреозу та гіпотиреозу	120
4.2.3 Атрофічні зміни статевих залоз самців	125
4.2.4 Патоморфологічні механізми формування гіпертрофії міокарда при гіпертиреозі та гіпотиреозі	128
4.2.5 Фіброзні зміни тканин при гіпер- і гіпотиреозі	133

4.3 Роль метилування ДНК у розвитку фіброзу органів при гіпертиреозі та гіпотиреозі	135
4.4 Маса органів щурів і динаміка маси тіла в експериментальних групах	139
ВИСНОВКИ	142
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	145

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

ГАГ – глікозаміноглікани

ІФА – імуноферментний аналіз

в.Т3 – вільний Т3

в.Т4 – вільний Т4

РАС – ренін-ангіотензинова система

Т3 – трийодтиронін

Т4 – тироксин

ТГ – тиреоїдні гормони

ТМБ – тетраметилбензидин

ТР – рецептори тиреоїдних гормонів

ТТГ – тиреотропний гормон

ЩЗ – щитоподібна залоза

D – дейодиназа

DNMT – ДНК-метилтрансфераза

ECM – (extracellular matrix) (позаклітинний матрикс)

TGF- β 1 – (Transforming growth factor-beta1) (трансформуючий фактор росту- β 1)

TRE – ТГ-відповідний елемент

ВСТУП

Актуальність теми. Особливе місце в механізмах нейрогуморальної регуляції функцій організму посідає щитоподібна залоза (ЩЗ), що пояснюється широким спектром фізіологічної активності тиреоїдних гормонів (ТГ). Актуальність досліджень молекулярно-генетичних механізмів патогенезу патології ЩЗ та спричинених захворювань набуває нині вагомого практичного та соціального значення, оскільки обумовлена суттєвим зростанням поширеності даних ендокринопатій серед працездатного населення [1–5].

Відомо, що ЩЗ має високу чутливість до впливу несприятливих чинників навколишнього середовища, зокрема іонізуючої радіації, внаслідок чого суттєво зменшується вміст йоду, необхідного для синтезу ТГ [3, 6]. Чорнобильська катастрофа призвела до різкого зростання патології ЩЗ. Медико-соціальне значення гіпотиреозу та гіпертиреозу визначається не тільки великою поширеністю і тенденцією до зростання захворюваності, але також і тим, що дисфункція ЩЗ може спричинити розвиток поліорганної патології. Таким чином, існує нагальна потреба у фундаментальному дослідженні механізмів ремоделювання тканин організму за умов патології ЩЗ.

При системній стійкій зміні вмісту ТГ відбувається альтеруючий вплив на органи [7–15]. Порушення процесів біосинтезу ТГ та їх метаболізму в тканинах може посилювати ризик виникнення захворювань, викликаючи пошкодження хроматину або активуючи епігенетичні механізми контролю активності ДНК [11, 16]. Зміни в метилуванні ДНК можуть призвести до сайленсингу активних генів або активації неактивних генів [9, 16]. Припускається, що в основі підтримання фіброгенезу лежать епігенетичні модифікації [10, 17], а саме гіперметилування гена, яке опосередковано підвищенням активності ДНК-метилтрансферази крові та пов'язано зі збереженням активності фібробластів і розвитком фіброзу у нирках [10].

Експресія ДНК-метилтрансферази регулюється статевими гормонами та ТГ, що підтверджується даними низки досліджень [16].

У літературі відсутні дані щодо впливу метилування ДНК на активацію фіброгенезу при дисфункції ЩЗ. Суперечливою є інформація про вплив епігенетичних чинників зокрема гіпер- та гіпотиреозу на метаболізм сполучної тканини у життєво важливих органах [10, 11], гормональну регуляцію фіброзу [13, 16], а також стосовно того, що фіброгенез є патологічним процесом заміщення пошкодження, який не припиниться навіть якщо первинна причина буде усунена. Вказані процеси ускладнюють дисфункцію тканин та роблять актуальною задачу виявлення зв'язку між активністю метилування ДНК та фіброзом при гіпер- та гіпотиреозі.

У зв'язку з цим, виникає необхідність дослідження механізмів ремоделювання тканин організму за умов патології ЩЗ та вивчення адаптаційних механізмів внутрішніх органів при цих патологічних станах.

Зв'язок роботи з науковими планами, програмами, темами. Дисертація виконана відповідно до плану НДР МОЗ України і є фрагментом теми «Біологічні ефекти збагаченої тромбоцитами плазми за фізіологічних умов та при експериментальному індукуванні патологічного процесу» (№ держреєстрації 0111U010172), яка виконувалась на кафедрі анатомії людини Одеського національного медичного університету (ОНМедУ) МОЗ України. Дисертант є співвиконавцем даної НДР.

Мета і задачі дослідження: Метою роботи є з'ясування особливостей процесів ремоделювання тканин і зв'язаної з ним активності ДНК-метилтрансферази крові у експериментальних тварин за умов гіпер- та гіпотиреозу.

Задачі дослідження:

1. З'ясувати комплексні особливості морфофункціональних змін органів-мішеней в умовах гіперфункції та гіпофункції щитоподібної залози.

2. Дослідити морфофункціональні особливості органів статевої системи щурів обох статей за умов експериментального гіпотиреозу та гіпертиреозу.
3. Вивчити роль ензиматичної активності ДНК-метилтрансферази крові залежно від рівня тиреоїдних гормонів.
4. Провести порівняльний гендерний аналіз вмісту вільного тироксину, вільного трийодтироніну у плазмі крові еутиреоїдних, гіпотиреоїдних та гіпертиреїдних тварин.
5. Визначити особливості впливу гіпертиреїдного та гіпотиреоїдного статусу на ендокринну функцію статевих залоз щурів.

Об'єкт дослідження: експериментальний гіпертиреоз та гіпотиреоз.

Предмет дослідження: механізми ремоделювання тканин в умовах гіпертиреозу та гіпотиреозу в щурів.

Методи дослідження – патофізіологічні, біохімічні, морфологічні, морфометричні, статистичні.

Наукова новизна одержаних результатів. Уперше встановлено, що процес ремоделювання тканинних структур у органах репродукції є гендерзалежним та супроводжується системними змінами з боку органів кровообігу, дезинтоксикації та екскреції, що підтверджується патоморфологічними дослідженнями.

Вперше показано, що гіпер- та гіпотиреоз є пусковим механізмом для ремоделювання судин, яке притаманно системній артеріальній гіпертензії, та формування поліорганної недостатності в умовах патофізіологічної моделі.

Вперше виявлені гендерні відмінності у синтезі тиреоїдних гормонів, які полягають у тому, що при гіпотиреозі вміст вільного трийодтироніну у плазмі самців знижується більше, ніж у самиць; при гіпертиреозі рівень вільного трийодтироніну плазми та вільного тироксину крові підвищується більше у самців, ніж у самиць.

Вперше визначені специфічні зв'язки між активністю ДНК-метилтрансферази крові та рівнем тиреоїдних гормонів у крові при гіпертиреозі та гіпотиреозі, які полягають у достовірному підвищенні ферментативної активності ДНК-метилтрансферази самців і самиць ($128,22 \pm 23,60$ та $128,54 \pm 17,10$ ОЩ/год/мг, $p < 0,001$, відповідно, при гіпертиреозі), ($72,57 \pm 8,90$ та $75,48 \pm 7,20$ ОЩ/год/мг, $p < 0,001$, відповідно, при гіпотиреозі) порівняно з контролем ($14,97 \pm 1,14$ та $15,47 \pm 1,10$ ОЩ/год/мг); також, у самиць із гіпотиреозом визначилась кореляція між рівнем вільного трийодтироніну крові і активністю ДНК-метилтрансферази крові ($r = 0,54$; $p < 0,05$).

Вперше доведено залежність між активністю ДНК-метилтрансферази крові та розвитком фіброзу органів за умов відтворення експериментального гіпер- та гіпотиреозу, яка проявлялася периваскулярним фіброзом і фіброзом паренхіми, більш суттєвим у печінці й нирках при гіпертиреозі та дифузною розповсюдженістю колагенових волокон у міокарді при гіпотиреозі, на тлі підвищення активності ДНК-метилтрансферази крові.

Новизна дослідження підтверджена патентом «Спосіб ранньої діагностики фіброзу печінки, нирок, серця при експериментальному гіпертиреозі та гіпотиреозі» (патент України № 78781 від 25.03.2013 р.).

Практичне значення отриманих результатів. Створена патофізіологічна модель гіпер- та гіпотиреозу є адекватною для визначення інтенсивності гендерспецифічних змін на рівні ремоделювання тканинних структур.

Результати роботи обґрунтовують необхідність гендерного підходу до корекції змін рівню тиреоїдних гормонів при гіпер- та гіпотиреозі.

Запропоновано доцільність використання у клініці активності ДНК-метилтрансферази у крові як показника активності фіброзу органів при гіпертиреозі та гіпотиреозі, що дозволяє контролювати активність фіброгенезу при дисфункції щитоподібної залози.

Результати роботи впроваджені в навчальний процес на кафедрах фізіології людини та тварин Одеського національного університету ім. І. І. Мечникова, загальної та клінічної патологічної фізіології ОНМедУ, анатомії людини ДЗ «Луганський державний медичний університет», патологічної анатомії та судової медицини з курсом основ права Вінницького національного медичного університету імені М. І. Пирогова.

Особистий внесок здобувача. Дисертаційна робота є особистою науковою працею автора. Автором особисто проведено патентно-інформаційний пошук, здійснено планування роботи, вивчено мету і задачі дослідження, методичні підходи, проведені патофізіологічні, морфологічні, біохімічні дослідження. Автор висловлює глибоку вдячність у проведенні морфологічних та морфометричних досліджень колективу патологоанатомічного відділення Центру (Університетської клініки) ОНМедУ під керівництвом к.мед.н. Л. Г. Роша. Проведено статистичну обробку одержаних результатів, їх оформлення у вигляді таблиць і рисунків, проведено аналіз та узагальнення результатів, сформульовано висновки роботи, опубліковано й апробовано основні положення, написано та оформлено дисертаційну роботу.

Апробація результатів дисертації. Основні результати дисертаційної роботи представлені на науково-практичній конференції молодих вчених «Молодь – медицині майбутнього», присвячений 200-річчю з дня народження М. І. Пирогова (Одеса, 2010), Всеукраїнській науково-практичній Internet-конференції «Статистичний та інтелектуальний аналіз даних у медико-гуманітарних дослідженнях» (Луганськ, 2010), XI міжнародній науково-практичній конференції «Современные информационные и электронные технологии» (Одеса, 2010), науково-практичній конференції молодих вчених «Молодь – медицині майбутнього», присвячений 135-річчю з дня народження М. Д. Стражеска (Одеса, 2011), VII міжнародній конференції «Стратегия качества в промышленности и образовании» (Варна, Болгария, 2011), наукових конференціях «Актуальні питання професійної патології» (Одеса, 2011), VII міжнародній заочній

науково-практичній конференції «Научная дискуссия: вопросы медицины» (Москва, 2012), міжнародній науковій конференції студентів та молодих вчених, присвячений 155-річчю з дня народження проф. В. В. Підвисоцького «Сучасні теоретичні та практичні аспекти клінічної медицини» (Одеса, 2012).

Публікації. За темою дисертації опубліковано 15 наукових робіт, у тому числі 6 статей, з яких 4 статті у наукових фахових виданнях, рекомендованих ДАК України, 1 – у зарубіжному виданні, яке включено до міжнародних наукометричних баз, 1 – у збірнику наукових праць. Опубліковано 8 тез доповідей у збірниках наукових робіт. Отриманий 1 патент України.

Об'єм і структура дисертації. Дисертація викладена на 167 сторінках комп'ютерного тексту і складається зі вступу, огляду літератури, опису матеріалів і методів дослідження, розділу власних досліджень, аналізу й обговорення результатів, висновків та переліку використаної літератури. Дисертацію ілюстровано 18 таблицями і 35 рисунками. Перелік використаних джерел літератури містить 203 джерел, із яких 36 кирилицею, 167 – латиницею.

РОЗДІЛ 1

СУЧАСНИЙ СТАН ПРОБЛЕМИ

1.1 Біосинтез і метаболізм тиреоїдних гормонів

Щитоподібна залоза здійснює продукцію та секрецію гормонів залежно від потреб організму. Синтез ТГ відбувається у три етапи: захоплення йода тиреоцитами, окиснювання йоду з утворенням йодтирозинів, взаємодія йодтирозинів з утворенням йодтиронинів (трийодтироніну (Т3) та тироксину (Т4)), які одразу утворюють комплексні сполуки з тиреоглобуліном, залишаючись у такій формі в колоїді. Йодування та окислювання – процеси, що залежать від тиреотропного гормону (ТТГ). Як запасні Т3 та Т4 завжди зв'язані з тиреоглобуліном у співвідношенні 1:10. Перед секрецією ТГ відокремлюються від тиреоглобуліну. Під впливом ТТГ тиреоцит фагоцитуює колоїдні краплини, які містять тиреоглобулін, і після гідролізу протеолітичними ферментами Т3 і Т4 надходять у кров.

Контроль над синтезом ТГ підпорядковується двом механізмам. В основі першого лежить принцип зворотнього зв'язку. Тиреотропін-релізинг гормон гіпоталамусу регулює синтез й екскрецію ТТГ гіпофіза, а ТТГ, у свою чергу, блокується рівнем ТГ в крові. Через рівень Т3 та Т4 у плазмі крові здійснюється зворотний негативний контроль секреції ТТГ: при зниженні рівню ТГ у крові підвищується рівень ТТГ, що приводить до посилення синтезу Т4 і Т3 у ЩЗ, також синтез ТТГ інгібується під дією підвищеного рівня ТГ. Ключову роль у цьому механізмі відіграє тиреотропін-релізинг-фактор гіпоталамуса. Багатокомпонентність цього механізму показує його чутливість до зміни секреції будь-якого гормону з ланцюжка. Другим механізмом є екстратиреоїдна конверсія Т4 у Т3 за допомогою дейодування Т4. Метаболізм Т3 і Т4 в активні та неактивні форми включає в себе дії 3 видів дейодиназ (D). ЩЗ секретує

приблизно 100 мкг Т4 і 6 мкг Т3 щодня. Додаткові 24 мкг Т3 виробляються шляхом дейодування Т4 у тканинах. Гормон ЩЗ активується, коли Т4 перетворюється на активний гормон Т3 шляхом видалення з його зовнішнього кільця атома йоду, і інактивуються, коли атом йоду видаляється з його внутрішнього кільця, що перетворює Т4 у неактивну форму – реверсивний Т3. Дейодування відбувається, головним чином, у клітинах, отже, клітинно-специфічні D відіграють важливу роль у визначенні активності гормонів ЩЗ. Три типи D знаходяться в організмі людини: 1) тип 1 – D1 (міститься в основному в печінці і нирках), що може видаляти йод з обох кілець; 2) тип 2 – D2 (міститься в основному в скелетних м'язах і серці, ЩЗ, центральній нервовій системі, жировій тканині), що може викликати дейодування зовнішнього кільця; і 3) тип 3 – D3 (міститься в тканинах плода та плаценті), який викликає дейодування тільки внутрішнього кільця [18]. Тканини, що містять D2, можуть по-різному реагувати на циркулюючу концентрацію Т4 (через внутрішньоклітинне перетворення Т3), ніж органи, які можуть реагувати тільки на Т3. Крім того, D1 та D2 регулюють системний рівень Т4 і Т3. Рівень гормонів ЩЗ у сироватці крові може залишатися стійким, хоча внутрішньоклітинна його рівень залежить від активності D [19].

1.2. Механізм дії: генетичний та негенетичний

У багатьох відношеннях Т4 можна розглядати як прогормон для більш активного гормону Т3. Більшість ТГ зв'язуються з рецепторами у вигляді Т3, при секреції ЩЗ, або при перетворенні Т4 на Т3 за допомогою D. Трийодотиронін зв'язується з ядерними рецепторами ТГ (ТР) з приблизно 10-15 разів вищою спорідненістю, ніж Т4. Розміщення та щільність ТР варіює в різних тканинах. Надходження ТГ у клітини для здійснення впливу

відбувається завдяки різним механізмам. Проходження Т4 може бути пасивним, завдяки ліпофільності, або енергозалежним.

Дія на клітині ТГ здійснюється через ядро клітини, плазматичну мембрану, цитоплазму і мітохондрії. Ядерні ТР є посередниками біологічної активності Т3 через регуляцію транскрипції. Два гени ТР, α і β , кодують чотири ізоформи Т3-зв'язувального рецептора ($\alpha 1$, $\beta 1$, $\beta 2$ і $\beta 3$). Ядерні ТР зв'язуються з ТГ-відповідним елементом (TRE) у специфічному цільовому гені. Після зв'язування ТГ рецептор викликає зміни експресії генів через збільшення або зменшення транскрипційної активності цільових генів. Продемонстровано, що ТГ впливає на експресію генів через різні клітинні сигнальні шляхи, включаючи глюконеогенез, ліпогенез, проліферацію клітин та апоптоз. Також показано, що багато з ТГ-залежних генів регулюються напряму ТР, інші, ймовірно, регулюються опосередковано через проміжні гени. Непряма дія ТГ активується, якщо час для індукції є повільним (години) і якщо інгібітори синтезу білків блокують дію гормонів. Хоча ТГ діють в основному на рівні транскрипції, вони також можуть вплинути на стабільність матричної РНК і ефективність трансляції. Таким чином, ТГ діють на декількох рівнях, змінюючи експресію білка.

Ген рецептора альфа ТГ кодує ліганд-активований рецептор ТР $\alpha 1$. У зв'язку з альтернативним сплайсингом, ТР $\alpha 1$ не зв'язується з ТГ і має слабкий ефект сайленсингу [20]. Крім того, експресуються короткі дельта-фрагменти ТР, які не включають N і C термінальні частини білка. Ці ТР дельта-1 і дельта-2 фрагменти мають домінуючий негативний ефект [20]. Крім того, що транскрипційна активність регулюється Т3, вона також залежить від типу TRE, розташованого на промоутерних зонах генів-мішеней Т3, від стадії розвитку організму, експресії ізоформ ТР у різних тканинах і ядерних корегуляторних білків. Ці ядерні корегуляторні білки модулюють транскрипцію ТР Т3-залежним чином. При відсутності Т3, корепресори активуються для пригнічення основної транскрипційної активності, тимчасом як у присутності Т3 коактиватори активують транскрипцію. На додаток до зв'язування лігандів,

фосфорилування відіграє важливу роль в впливі ядерних рецепторів на молекулярному рівні, у тому числі модуляції зв'язування гормону, ліганд-залежній транскрипції генів. При зв'язуванні ліганду ТЗ з ТР підвищується транскрипція генів. За відсутності ліганду ТЗ ТР можуть пригнічувати експресію генів, що призводить до сайленсингу генів. Зв'язок між ТГ і базальною транскрипцією відбувається через складний комплекс коактиваторів і корепресорів [21].

В печінці міститься близько 90 % ТР β , а в серці в основному ТР α [18]. ТР α 1 забезпечує підтримання гомеостазу, регулюючи частоту серцевих скорочень [22, 23], і відповідає за адаптивний термогенез [23], стресові реакції [24]. Крім того, ТР α 1 контролює вторинні ушкодження ДНК, викликані відновленням тканин [25].

ТР β має більш обмежені випадки експресії, які не з'являються до кінця повного розвитку плода. Інактивація гена *TR β* призводить до порушення слухової функції, але ніяких змін у розвитку, обміні речовин або неврологічних функціях не завдає. У серці функція ТР β проявляється тільки у стані гіпертиреозу. Сьогодні доведено, що ТР β є посередником ТГ-індукованого ангиогенезу [26].

На відміну від позитивного регулювання цільових генів, гени, які негативно регулюються ТГ, можуть стимулюватися за відсутності ТГ. Регулювання активності ТГ та ТТГ α - та β -субодиницями генів вважаються моделями негативного регулювання генів. З фізіологічної точки зору, негативне регулювання цих генів є одним з найважливіших аспектів контролю зворотного зв'язку ТГ. У цих негативно-регульованих генів TRE локалізовані у проксимальних промоутерних регіонах. Однак зв'язування ТР до передбачуваних TRE у цих промоутерах є досить слабким у порівнянні із сайтами зв'язування позитивно регульованих генів. Повідомляється про кілька потенційних механізмів негативного регулювання ТГ. Негативне регулювання може включати втручання рецепторів у діяльність інших факторів транскрипції. ТР можуть перешкоджати експресії генів при взаємодії між

білками та факторами позитивної транскрипції. Негативне регулювання може також виникати при безпосередньому зв'язуванні TR із ДНК. Дослідження на мікрочіпах подвійно нокаутних і гіпотиреоїдних мишей показало лише часткове перекриття профілів генів, що регулюють експресію TR [18]. Цей факт підтверджує, що відсутність рецепторів дає інший фенотип, ніж при нестачі гормонів. Цілком імовірно, що базальна транскрипція відбувається навіть за відсутності рецепторів, тимчасом як базальна репресія цільових генів здійснюється за відсутності гормонів.

На додаток до класичного генетичного механізму дії ТГ на основі взаємодії з TR існує негенетичний механізм, який не пов'язаний зі зв'язуванням гормону ЩЗ з ядерними рецепторами. ТГ можуть починати діяти вже в мембрані або у цитоплазмі. Деякі з неядерних сайтів для зв'язування ТГ включають Т3-асоційовані транспортери плазмової оболонки, кальцієву АТФазу, аденілатциклазу, транспортери глюкози. Тироксин, без конверсії в Т3, є також агоністом плазматичної мембрани. Цей механізм може бути опосередкований зв'язуванням ТГ з інтегрин рецепторами $\alpha\beta3$ на поверхні клітин, що активують ERK1/2, і проявляється у місцевому впливі на мембрану, на систему транспорту іонів або призводить до ДНК-залежних ефектів [27]. Нещодавно було показано, що TR β може взаємодіяти з p85 субодиницею з РІЗК і активувати РІЗК-А/РКВ сигнальний шлях таким чином, що невелика субпопуляція цитозольного TR $\beta2$ може брати участь у клітинному сигналюванні. Ця РІЗК активація Т3 призводить до прямого та непрямого впливів на транскрипційну активність декількох генів, що і забезпечує механізм для крестокінгу між ТГ і сигнальними клітинними шляхами. Крім того, можливо існує субплазматичний відділ оболонки рецепторів ТГ, як це було описано для рецепторів естрогену [28, 29]. Цікаво, що цитозольний TR $\alpha1$ є важливим компонентом негеномного сигнального шляху [30].

Транспорт Т3 у клітини відбувається за допомогою транспортерів ТГ з подальшим зв'язуванням димерів – TR з рецепторами ретиноєвої кислоти, які стимулюють транскрипцію цільових генів. Також Т4 здатний до незалежної від

ТР біологічної активності – Т4 зв'язується з мембранними рецепторами з утворенням $\alpha V\beta 3$ інтегринів. Цей комплекс стимулює MAPK шлях, що призводить до фосфорилування ТР β і пов'язаної із ним зміни в експресії генів [18]. Також показано, що Т3 впливає на деякі функції мітохондрій і продукцію NO через активацію РІЗК. Усі ці функції залежать від активності D [31].

Відомо, що гормони ЩЗ збільшують аеробний метаболізм у мітохондріях і викликають інтенсивне утворення кисню й азоту, що призводить до умов окисного стресу. Крім того, зв'язування гормонів ЩЗ зі специфічними ядерними рецепторами у клітинах-мішенях індукує експресію ферментів, пов'язаних з окисно-відновними процесами і підвищенням загальної швидкості споживання кисню. Окиснювальний стрес призводить до ушкодження біологічних молекул, таких як білки, ліпіди мембрани і ДНК. Окисне ушкодження ДНК може призводити до різних її модифікацій. Підвищений рівень ТГ може збільшити виробництво активних форм кисню (АФК) у мітохондріях не тільки в органах, що знаходяться під сильним впливом ТГ (органах-мішенях), але і в лейкоцитах людини. Показано, що гормони ЩЗ можуть призвести до ушкодження ДНК *in vitro* в очищених лімфоцитах людини та сперматозоїдах [32]. Експериментально індукований тиреотоксикоз в печінці щурів супроводжувався збільшенням швидкості печінкового споживання O_2 , посиленою мікросомальною окиснювальною здатністю й утворенням АФК. Крім того, лікування ТГ знижує активність супероксиддисмутази, каталази і вміст глутатіону у печінці щурів. Ця депресія ключових антиоксидантних механізмів сприяє окиснювальному стресу в печінці. Оскільки антиоксидантний фермент каталаза сприяє зменшенню кількості таких ефектів, ушкодження ДНК зумовлено в основному дією АФК. Однак Т4 надає тільки слабкі генотоксичні ефекти у вигляді збільшення частоти сестринських хроматидних обмінів на клітину в культурі лімфоцитів людини [32].

1.3 Вплив тиреоїдних гормонів на розвиток ремоделювання тканин

Ремоделювання – це термін, який на сьогодні широко використовується, а спочатку він вживався для опису змін, які відбуваються після інфаркту міокарда. Значення слова згодом було розширене і стало використовуватися для визначення різних умов, включаючи механічні перевантаження, а також для гіпертонічної, клапанної кардіопатії, сімейної гіпертрофічної та дилатаційної кардіоміопатії. Гормональні інтоксикації (тироксинам, ангіотензином II, альдостероном), експериментальні або клінічні, також можуть призвести до ремоделювання міокарда. Нині терміном «ремоделювання» позначають морфологічні зміни, що призводять до перебудови звичайно існуючих структур органів. Хоча реконструкція не обов'язково визначає патологічний стан, але, як правило, обмежена умовами хвороби. Тобто ремоделювання можна визначити як процес адаптації до змінених несприятливих умов функціонування органів. Загалом ремоделювання є оборотним процесом, за умови якого причина була або зупинена або ослаблена. Необоротні зміни в молекулярній структурі та їх наслідки, з точки зору фізіології клітини, можна розділити на три основних механізми: шкідливі наслідки загального процесу адаптації, загибель клітин і фіброз.

Ремоделювання серця, наприклад, можна розглядати як адаптативну реакцію у відповідь на стрес, такий як ішемія міокарда, перевантаження міокарда, системний гіпер- або гіпотиреоз, що призводить до низки структурних і функціональних змін у життєздатному міокарді. З ініціацією ремоделювання міокарда включається безліч компенсаторних механізмів, таких як активація нейро-гуморальної системи і каскаду запалення. Протягом певного періоду ці механізми можуть компенсувати гомеостаз системи. Але при тривалому впливі патологічного чинника можливе виснаження компенсаторних механізмів та розвиток вторинних ушкоджень органів, що індукує перевантаження кальцієм, апоптоз міоцитів, фіброз та гіпертрофію міокарда.

У нормі існує баланс між апоптозом клітин, проліферацією і диференціюванням. Насправді, становлення міокарда залежить від збільшення сигналізації ТГ після народження, що індукує зростання і транскрипційне програмування, яке призводить до характерної експресії генів у дорослому серці [33]. Таким чином, ТГ має вирішальне значення у дозріванні органів, тому можна припустити, що зміни сигналізації ТГ, які виникають під час хвороби, є важливими. Останні експериментальні та клінічні дослідження допомагають по-новому поглянути на роль ТГ у ремоделюванні серця [11]. Однією з основних особливостей ремоделювання серця є повернення до програмування генів за фетальним типом, що призводить до дедиференціювання клітин і до серцевої недостатності. Фізіологічне значення цієї реакції та основних потенційних механізмів залишається повністю не зрозумілим. Її можна розглядати як неадаптивну відповідь щодо функції серця, але також як адаптаційний процес щодо кардіопротекції та регенерації тканин [34, 35]. Ця гіпотеза підтримується експериментальними даними регенерації серця у моделі риби зебри (zebra fish), які показують, що джерелом кардіоміоцитів є дедиференційовані зрілі клітини, а не клітини-попередники [36]. Ці дані, ймовірно, вказують, що механізми, пов'язані з диференціацією / дедиференціацією клітин, і ті, які беруть участь у морфогенезі органів під час розвитку, можуть бути залученими до ремоделювання серця.

Регуляційний вплив ТГ на клітинний фенотип можна розділити на кілька видів дії: 1) ефекти, які опосередковуються через рецептори ТГ (TR α 1, TR β 1), локалізовані в ядрі, що взаємодіють зі специфічними елементами ДНК на T3-залежних генах (геномна дія); 2) ефекти, ініційовані зв'язуванням T3 до цитозольних TR, з активацією внутрішньоклітинних сигнальних шляхів, включаючи PI3K-Akt-mTOR; 3) ефекти, які не залежать від TR, та ініціюються зв'язуванням ТГ з рецепторами плазматичної мембрани (інтегрин α V β 3), призводячи до внутрішньоклітинної сигнальної відповіді. Усі механізми дії ТГ, розпочаті в ядрі, цитоплазмі або плазматичній мембрані, мають можливість впливати на експресію гена. Недавні дослідження, які вивчали вплив ТГ на

цитозольні TP, показали, що активація PI3K-Akt-mTOR шляху була необхідною для ТГ індукції генів, що кодують гіпоксія-індукований фактор-1 α (HIF-1 α) та інгібітор білка кальциневрину ZAKI-4 α (також відомий як модуляторний кальциневрин-взаємодіючий білок, MCIP2) [36].

1.3.1 Розвиток фіброзу в тканинах під впливом тиреоїдних гормонів. Сполучна тканина визначає структурну цілісність серця. Серцеві фібробласти відповідають за синтез волокнистих білків, таких як колаген й еластин, і регулюють вивільнення металопротеїназ, ферментів, що беруть участь у деградації колагену. Позаклітинний матрикс (ECM) сполучної тканини забезпечує базис для клітин і визначає механічні властивості, а також впливає на метаболізм серцевої тканини. Крім того, сполучна тканина зв'язує міоцити з капілярами і сприяє підтримці прямого потоку під час систоли. Надмірне нагромадження колагену в серці знижує це узгодження.

Матриця сполучної тканини серця залишається під регулювальним впливом гормонів ЩЗ. Незалежно від способу індукції, гіпотиреоз збільшує вміст колагену і глікозаміногліканів (ГАГ) у серці. Це гетерополісахариди, що складаються з дисахаридних повторюваних послідовностей, які при додаванні білкового ядра утворюють протеоглікани. Крім того, ГАГ беруть участь у регуляції експресії генів [37]. Аніонні групи, розташовані по всій довжині ланцюга ГАГ, створюють високий негативний електростатичний потенціал, який притягує невеликі катіони і відштовхує аніони, впливаючи на іонний баланс [38]. ГАГ можуть електростатично взаємодіяти з колагеном та іншими макромолекулами сполучної тканини і змінювати процес фіброгенезу колагену.

Деякі дані свідчать про те, що ЩЗ має регуляторний вплив на метаболізм сполучної тканини. Ін'єкції ТЗ вже після 72 год збільшують рівень мРНК для обох типів проколагену I і III у серці щурів. Було показано зниження експресії гена колагену II типу [39] та підвищення деградації колагену [40] в яєчнику щурів із гіпотиреозом.

Первинний гіпотиреоз, викликаний тиреоїдектомією та лікуванням метилтіоурацилом, призводить до збільшення вмісту колагену в серці щурів з гіпотиреозом. Ці дані складаються з морфологічних спостережень, які вказують на збільшення фіброзу в інтерстиції серця при гіпотиреозі. Тим не менше, результати не пояснюють механізм цього процесу. Збільшення вмісту колагену в серці не є ефектом прямої стимуляції ТТГ на міофібробласти серця [11, 13]. При гіпертиреозі визначається підвищений рівень телопептиду – маркера синтезу колагену [41]. Введення гормонів ЩЗ щурам індукувало розвиток гіпертрофії серцевого м'яза, але надмірного нагромадження колагену не спостерігалось. Лікування щурів Т4 приводить до прискореного катаболізму колагену та підвищеної концентрації гідроксипроліну в сироватці крові та сечі. Показано, що гормони ЩЗ пришвидшують паралельно два протилежних процеси: синтез колагену та його катаболізм [10, 11], але не змінюють вміст колагену в серці. Були отримані суперечливі дані у гіпотиреоїдних суб'єктів. Короткі, тонкі та слабкі колагенові волокна були знайдені у рані хворих з гіпотиреозом. У яєчників щурів з гіпотиреозом рівні проколагену типів I і III були збільшені. На противагу цьому, гіпотиреоз запобігає фіброзу печінки у щурів [42]. Цей ефект, зумовлений дефіцитом Т3, стимулює синтез колагену і знижує секрецію металопротеїнази-2 [43]. Збільшення вмісту колагену у серці щурів з гіпотиреозом, імовірно, залежить від зменшення катаболізму цього білка [11].

Бичачий ТТГ збільшує кількість міофібробластів у культурі клітин. Оскільки кількість некротичних клітин не змінювалася під дією ТТГ, результати показують, що збільшена кількість клітин є ефектом підвищеної проліферації. Ізольовані міофібробласти серця – основне джерело позаклітинних сполук, таких як ГАГ і колаген. Є дані, що ін'єкція ТТГ в організм і мишей і щурів індукує проліферацію клітин сполучної тканини і збільшує осадження колагену та протеогліканів у ретробульбарному просторі [44, 45]. Деякі дослідження документують існування рецепторів ТТГ у фібробластах шкіри людини, ретробульбарному просторі [44, 45]. Дослідження

показують, що ТТГ не змінює вміст колагену і ГАГ у культурі ізольованих міофібробластів [37]. Таким чином, підвищений вміст білків позаклітинної матриці в серці щурів з гіпотиреозом залежить не від прямої дії ТТГ на міофібробласти серця.

Фіброз міокарда, що являє собою збільшену концентрацію колагену та його нагромадження, підвищує жорсткість міокарда, бо колаген є ригідним білком, та створює електричну неоднорідність міокарда і генерує аритмії. Фіброз міокарда, ймовірно, є однією з основних біологічних детермінант фатальних проблем при ремоделюванні міокарда, у тому числі застійної серцевої недостатності, тяжкої аритмії та раптової смерті, проте, дослідження фіброзу міокарда все ще є дуже рідкісними у порівнянні з дослідженнями на культурі міоцитів. Більшість дослідників, які вивчають фіброз, фокусуються на міокарді, залишаючи інші органи без уваги.

Виділяють два типи фіброзу: репаративний та реактивний фіброз. Репаративний фіброз виникає як реакція на втрату структурного матеріалу серця (через некроз або апоптоз, після ішемії міокарда або під час старіння), а це в основному інтерстиціальний. На відміну від репаративного, реактивний фіброз спостерігається за відсутності втрати клітин як реакції на запалення і, в першу чергу, є периваскулярним. Реактивний фіброз надалі розповсюджується на сусідній інтерстиціальний простір. При ремоделюванні серця реактивний і репаративний фіброз зазвичай співіснують.

Ушкодження тканин спочатку пов'язане із запальними клітинами, головним чином, макрофагами, які виробляють TGF- β 1. Одна з властивостей TGF- β 1 є перетворення інтерстиціальних фібробластів у міофібробласти, які легко виявити вже через 4 дні після травми. TGF- β 1 і ангіотензин II відповідають за нагромадження колагену [7, 8].

Позаклітинний матрикс складається з різних білків, у тому числі колагену, компонентів перичелюлярної матриці (фібронектину і протеогліканів), компонентів базальної мембрани (ламінін, колаген типу IV), кількох протеаз (у тому числі колагенази), і факторів росту. Початкова

модифікація ЕСМ під впливом певних чинників включає в себе збільшення деградації колагену, зменшення його вмісту і дезорганізацію нормальної фібрилярної сітки колагену, що відбуваються в центрі зони ішемії. Зміни в ЕСМ перебігають надзвичайно швидко і починаються з активації експресії фібронектину, який швидко змінюється синтезом мРНК колагену. Сьогодні чітко встановлено, що нагромадження фібронектину передуює накопиченню колагену протягом фібрилогенезу в різних моделях, пов'язаних з ремоделюванням серця. мРНК фібронектину швидко експресується в периваскулярному просторі, навіть під час перевантаження тиском, і передуює транскриптам колагену типів I і III. Фібронектин, ймовірно, є одним з компонентів біологічного каскаду, викликаного ішемією, вазоактивними пептидами, або катехоламінами, який включатиме в себе послідовну експресію TGF- β 1, фібронектину, а потім колагену типу I [7, 8, 11].

Збільшення проліферації фіброblastів, з одного боку, зниження мРНК актину цитоскелета і про- α 2-колагену типу I – з другого, після лікування L-тироксина дає підстави зробити висновок, що тимчасом, як ТГ сприяє підвищенню проліферації серцевих фіброblastів, та ТГ спеціально гальмують експресію генів білка цитоскелета і колагену типу I і, ймовірно, не викликають гіпертрофії серцевих фіброblastів. На основі даних про проліферацію серцевих фіброblastів можна припустити, що хоча їх проліферація призводить до збільшення кількості клітин, які виробляють колаген, але це не обов'язково веде до підвищення продукції колагену в міокарді. Це підтверджується введенням препарату або гормону зі стимулювальною дією, що впливає на проліферацію клітин, викликаючи специфічне інгібування експресії генів колагену в окремих серцевих фіброblastах [11].

Одним із факторів, який може вплинути на розвиток фіброзу, є рівень гормонів ЩЗ із типовим збільшеним нагромадженням колагену, що відбувається при гіпотиреозі. Поки не зрозуміло чи подібний процес збільшення фіброзу з віком у мишей бути пов'язаний з подальшим зниженням рівня ТГ при щитоподібної недостатності у літніх гризунів.

ТГ мають важливе значення в регуляції SERCA2 серцевої діяльності і, отже, скоротливості. Цей ефект спостерігався на трансгенних мишах, де зв'язування Т3 з FOG2, знижувало активність SERCA2, що призводить до застійної серцевої недостатності та ранньої смерті [46]. Було показано, що гормони ЩЗ стимулюють транскрипцію генів SERCA2. Було проаналізовано промотори генів SERCA2 і знайдено три різних відповідних ТГ елементи. Один з елементів є прямим повтором, другий і третій елементи – перевернутими паліндромними елементами. Елементи відповіді для ТГ при цьому були мутовані у нефункціональних TRE, в яких було усунуто ефекти ТГ на активацію SERCA2 промоторів [47]. Ці дослідження також показали, що перші TRE були найпотужнішими у стимулювальній дії на ген SERCA2. Також ТГ впливають на експресію фосфоламбану. При гіпотиреозі його рівень збільшується, що призводить до гальмування SERCA2. До того ж гормони ЩЗ позитивно впливають на транскрипцію гена важкого ланцюга міозину MHC α та інгібують MHC β [33]. мРНК і рівні білка важкого ланцюга міозину бета зменшуються при гіпотиреозі у тварин.

1. 3. 2 Роль метилювання ДНК у фіброгенезі, який був викликаний гормонами щитоподібної залози. Порушення процесів біосинтезу ТГ та їх метаболізму в тканинах може посилювати ризик виникнення захворювань внаслідок ушкодження хроматину або активування епігенетичних механізмів контролю активності ДНК [11]. Показана роль епігенетичних модифікацій у патогенезі фіброзу, зокрема, метилювання ДНК і модифікація гістонів [48].

Метилювання ДНК є найкраще дослідженим епігенетичним фактором, який відіграє ключову роль у продукції стабільних змін експресії генів, бере участь в адаптації клітин до зміни умов. Деякими авторами встановлена роль метилювання ДНК у формуванні клітинної відповіді на фізіологічні ендокринні сигнали [16]. Епігенетичні зміни не тільки несуть відповідальність за нормальний розвиток, але також беруть участь у розвитку хвороби. Зміни в метилюванні ДНК можуть призвести до сайленсингу активних генів або

активації неактивних генів [9, 16]. Припускається, що в основі підтримання фіброгенезу лежать епігенетичні модифікації [10, 17, 48]. Гіперметилування гена *RASAL1*, що кодує інгібітор онкобілка Ras, опосередковане підвищенням активності ДНК-метилтрансферази (DNMT) і пов'язане зі збереженням активності фібробластів і розвитком фіброзу у нирках [10, 48].

Метилування ДНК складається з ковалентного додавання метильної групи до цитозину у 5-й позиції. Це зазвичай відбувається на цитозині, після гуаніну, та називається CpG динуклеотид. Подовження ДНК з високим вмістом C + G і часті CpG динуклеотиди визначаються як CpG острівці [49]. Ця реакція каталізується ферментами DNMT. У ссавців DNMT включає чотири типи, які відрізняються структурно та функціонально: DNMT1, DNMT2, DNMT3A та DNMT3B. Початкове CpG метилування встановлюють DNMT3A та DNMT3B, тимчасом як DNMT1 підтримує цей процес під час реплікації ДНК. Експресія DNMT знаходиться під гормональним контролем, зокрема DNMT3A, DNMT3B і DNMT1 перебувають під регулюванням естрогену та прогестерону під час менструального циклу [17]. Виявлено зв'язок між підвищенням активності DNMT1 та фіброзом у нирці [10, 48]. Також відомо про вплив ТГ на розвиток фіброзу у серці [11, 13, 37, 46, 50]. Механізми цих змін мають генетичний характер – викликають ушкодження хроматину, і епігенетичний характер – активують епігенетичні механізми контролю активності ДНК [13, 16].

Аберантне метилування генів відбувається при патологічних станах, особливо при розвитку раку, що призводить до сайленсингу генів-супресорів росту пухлини [16], які часто стають гіперметильованими і репресованими у ракових клітинах [9]. Проте дослідження останніх років вийшли за межі вивчення раку. Сьогодні встановлено, що метилування ДНК має важливе значення для нормального розвитку та диференціювання у ссавців [16, 17]. Зазвичай експресовані гени у дорослому організмі захищені від метилування у нормальних клітинах. Цей захист має вирішальне значення, оскільки метилування CpG-острівців у промоутерах пов'язано із втратою експресії генів. Показано, що метилування не здійснюється для дезактивації генів, які

активно транскрибуються, але тільки впливає на гени, які вже були неактивними завдяки іншим факторам. Є підстави вважати, що транскрипційна активність може залишати відбиток про вільний статус для метилування CpG острівців [51].

Виходячи з цього, можна припустити, що можливим патогенетичним механізмом впливу підвищеного та зниженого рівнів ТГ на метаболізм колагену є епігенетичні модифікації, зокрема зміна активності DNMT. Для підтвердження цієї гіпотези було проведено експериментальне дослідження.

Незважаючи на ретельний пошук даних про вплив метилування ДНК на активацію фіброгенезу при дисфункції ЩЗ, таких публікацій нами не було знайдено. Наявність нечисленної та суперечливої інформації щодо впливу епігенетичних факторів на метаболізм сполучної тканини у життєво важливих органах [10, 11, 48], гормонального впливу на розвиток фіброзу [13, 16], а також те, що фіброгенез є патологічним процесом заміщення ушкодження, який не припиняється навіть після усунення початкової причини, робить актуальним завдання, яке полягає у виявленні зв'язку між активністю метилування та фіброзом при гіпертиреозі та гіпотиреозі.

Таким чином, при опрацюванні джерел літератури, присвячених проблемі фіброзу органів при гіпертиреозі та гіпотиреозі, нами встановлено, що незважаючи на очевидні успіхи вітчизняних і зарубіжних дослідників у цій сфері, дане питання потребує подальшого вивчення. Зокрема доцільно зосередити зусилля на визначенні зв'язку між ферментативною активністю DNMT і розвитком фіброзних змін у міокарді, печінці, нирках при гіпертиреозі та гіпотиреозі в експерименті. Результати цих досліджень повинні не тільки поліпшити наше розуміння молекулярної основи фіброгенезу в різних органах, а також надати необхідну інформацію, яка дозволить у подальшому розробити ефективну діагностично-лікувальну тактику ведення пацієнтів з гіпер- та гіпотиреозом. Зазначені вище напрями мають високу актуальність для сучасної науки і практики, їх реалізація дозволить значно поліпшити здоров'я та якість життя.

1.4 Характер гіпертрофії міокарда при гіпотиреозі та тиреотоксикозі

Гіпертрофія серця є клінічним діагнозом, що визначається збільшенням маси міокарда і була описана як найважливіший незалежний фактор ризику підвищеної смертності. Компенсаційна, або адаптивна, гіпертрофія може виникнути під час початкової фази гіпертонічної хвороби, коли збільшуються товщина стінки шлуночка й перенавантаження стінки, і збереження систолічної функції може нормалізуватися. Численні клінічні дослідження підтвердили прогресію компенсованої гіпертрофії серця з нормальною скорочувальною функцією, яка призводить до депресії серцевих функцій (описана як декомпенсація) і врешті-решт, призводить до серцевої недостатності (American Heart Association, Heart Disease & Stroke Statistics, 2009). На відміну від цього опису патологічної гіпертрофії, збільшення маси міокарда може відбуватися і без негативних функціональних наслідків за певних умов у спортсменів, що визначається як фізіологічна гіпертрофія. Розуміння молекулярних і біохімічних змін, які відбуваються при фізіологічній і патологічній гіпертрофії серця, може спрямовувати розвиток терапевтичної стратегії для лікування серцевої недостатності. Тобто індукція фізіологічної гіпертрофії включає збільшення синтезу нормальних скорочувальних білків і мітохондрій, нормалізацію метаболічних шляхів і геометрію камери серця, зменшення фіброзу та неоваскуляризації пропорційно до зростання міокарда. Спостереження, що ТГ або їх аналоги активують чимало факторів фізіологічної гіпертрофії, підвищило можливість їх терапевтичної корисності при лікуванні після інфаркту міокарда або при серцевій недостатності. Ця тема була предметом кількох останніх оглядів [13, 52]. Серцева гіпертрофія у відповідь на ТГ була визначена як фізіологічна гіпертрофія [52]. На клітинному рівні гіпертрофія передбачає збільшення розміру серцевих міоцитів, однак на рівні органа гіпертрофічний ріст викликає пропорційний проліферативний ріст інших типів клітин у серці, у тому числі і судин. Отже, щоб викликати

фізіологічну реакцію росту, ТГ повинні стимулювати проліферацію клітин, а також збільшення кардіоміоцитів таким чином, щоб не зіпсувати нормальне функціонування міофібрил у процесі скорочення. Ранні дослідження показали, що гіпертрофія серця у відповідь на введення ТГ, призводить до збільшення швидкості синтезу білка через підвищення кількості трансляційно активних рибосом. Крім того, ТГ регулюють експресію певних генів, які активуються при нормальному зростанні, і запобігають експресії генів за фетальним типом, що характерне для патологічної гіпертрофії [29, 53]. Таким чином, вплив ТГ на клітинні процеси специфічні типи клітин, включає в себе кілька регулювальних механізмів [54]. Саме ця різноманітність дії ТГ привертає увагу до розвитку цих молекул як потенційних терапевтичних агентів.

Гормони ЩЗ виявляють безліч впливів на серцево-судинну систему. При гіпертиреозі збільшуються сила та швидкість систолічного скорочення і швидкість діастолічного розслаблення – це основні позитивні ефекти. Крім того, ТГ мають електрофізіологічні ефекти: збільшення частоти серцевих скорочень і схильності до фібриляції передсердь; ці ефекти є в основному малоадаптивними. Крім того, ТГ помітно збільшують серцевий ангиогенез і знижують тонус судин. Численні ефекти ТГ ґрунтуються на посередництві дії ядерних ТР. Переважаючою ізоформою в серці є ТР α . Деякими з найбільш помітних негенетичних ефектів гормонів ЩЗ у кардіоміоцитах є вплив на експресію генів SERCA2. У гіпотиреоїдних тварин рівень фосфоламбану, що інгібує SERCA2, зростає. Важкий α -ланцюг міозину збільшується при підвищенні рівня Т3, а МНС- β – знижується. Гіпертрофія серця, опосередкована дією ТГ, що у початковій фазі представлена фізіологічною гіпертрофією зі збільшенням рівня SERCA2 і зниженням експресії МНС- β [55]. Було висловлено припущення, що різні елементи сигнальних шляхів беруть участь у розвитку фізіологічної та патологічної гіпертрофії серця. Для фізіологічної гіпертрофії одна з моделей припускає, що IGF1 зв'язується зі своїм рецептором на серцевих міоцитах. Це стимулює активацію PI3 кінази, що призводить до фосфорилування АКТ, який потім ініціює зміни в експресії

генів, сумісних з фізіологічним фенотипом серцевої гіпертрофії. На противагу цьому, основними елементами при патологічній гіпертрофії серця є активація каскаду MAPK з ERK1 / 2, p38 MAPK і JNK 1/2/3 [56, 57]. Крім того, система кальциневрину відіграє важливу роль у розвитку патологічної серцевої гіпертрофії [57, 58].

З другого боку, серцева недостатність, індукована перевантаженням тиском, призводить до патологічної гіпертрофії серця, яка значною мірою опосередкована активацією системи кальциневрину і MAPK сигнальною системою. Останні дані свідчать про те, що серцева недостатність може призвести до пригнічення сигнальної системи гормонів ЩЗ у серці. При серцевій недостатності відбувається зниження рівня ТР і рівню Т4 і Т3 сироватки крові. Зниження Т3 при серцевій недостатності є показником поганого прогнозу. У моделях на тваринах показано, що при гіпертрофії серця, індукованій перевантаженням тиском, відбувається зменшення рівня ТР. Гіпотиреоїдний статус при серцевій недостатності сприяє зменшенню серцевої скорочувальної функції.

Чіткий поділ між фізіологічною і патологічною гіпертрофією не уявляється можливим, і з часом, компенсована фізіологічна гіпертрофія може призвести до кардіоміопатичної дилатації та патологічного типу гіпертрофії [55, 56]. Сприяючим чинником у переході до патологічної гіпертрофії є недостатнє кровопостачання внаслідок низької щільності капілярів, що не встигає за збільшенням серця.

Показано, що регулювання експресії гена колагену в моделі гіпертрофії серця у щурів пов'язане з підвищенням артеріального тиску [54, 55]. Відкладення колагену у міокарді гіпертиреоїдних щурів істотно не відрізнялося від даних групи контролю. Це перші свідчення про гальмування експресії гена колагену типу I, викликаного гормональною регуляцією [54]. Припускається, що гіпертрофія міокарда, індукована ТГ, не супроводжується серцевим фіброзом [54 – 56]. Ці дані мають особливе значення у зв'язку з ідентифікацією різних типів гіпертрофії міокарда. Зниження рівня мРНК різних білків може

бути пов'язане із порушенням стабільності мРНК. Було показано, що гормони ЩЗ незначно впливають на стабільність мРНК про- $\alpha 2$ -колагену типу I в культурі серцевих фібробластів, це вказує на те, що гормони ЩЗ впливають на активність колагену типу I, отже, регулюють експресію гена на рівні транскрипції [11].

Таким чином, гіпертиреоз з певним терміном дії може привести до компенсованої концентричної гіпертрофії серця. Оскільки, гіпертиреоз в цілому існує протягом обмеженого терміну, то переважає фізіологічний тип гіпертрофії.

При моделюванні гіпертрофії правого шлуночка серця, шляхом створення легеневої гіпертензії знайдено значне збільшення D3 [58]. Фактор NIF-1 α виявився безпосереднім стимулятором промотора гена дейодинази, що призводить до збільшення експресії T3 [59]. У цьому зв'язку можна стверджувати про тісну взаємодію між активністю ТГ і нормальною серцевою функцією. Таким чином, тканинний гіпотиреоз через збільшення активності D3 призводить до розвитку гіпертрофії правого шлуночка. Цікаво, що D3 була значно вищою у тих тварин, у яких гіпертрофія прогресувала до серцевої недостатності [11, 29]. Збільшення активності D2 хоча і не впливає на розвиток гіпертрофії серця, може повністю запобігти порушенням скоротливості, а також зміненої експресії SERCA2, саркопроліну та інших маркерів патологічної гіпертрофії [11, 29, 36].

У стані гіпотиреозу міокард втрачає здатність до розвитку компенсаторної гіпертрофії. Показано, що діабет також викликає тканинний гіпотиреоз після перенесеного інфаркту міокарда у зв'язку зі зниженням регуляції TR $\alpha 1$ - і TR $\beta 1$ -рецепторів. Аналогічним чином, у цих серцях не розвинулася компенсаторна гіпертрофія [11]. Ці дані вірогідно свідчать, що сигнальний шлях ТГ може бути замінений у відповідь на ішемію як у нормальному, так і у патологічному міокарді.

Фізіологічний серцевий фенотип, індукований ТГ, опосередковується головним чином своєю дією на певні гени шляхом зв'язування з ядерним ТР. Ці

ТГ-залежні гени кодують структурні та регуляторні білки, у тому числі міофібрилярних білків, таких як важкий ланцюг міозину (МНС α і β), і білки SERCA2 і фосфоламбан.

Збільшення діастолічної та систолічної серцевих функцій, що спостерігається при гіпертиреозі, в значній мірі пояснюється змінами в експресії цих білків. Регуляція експресії генів колагену ТГ у серцевих фібробластах, швидше за все, відповідає за відсутність фіброзу в індукованій ТГ гіпертрофії серця. Інші ТГ-залежні гени, такі як адренергічний рецепторний комплекс, включаючи β -адренорецептори, гуанін-нуклеотид-регуляторні білки, аденіліл циклаза, сприяють підвищенню адренергічної активності серця. Гени, що кодують транспорт кількох іонів через плазматичну мембрану, таких як Na^+/K^+ -АТФ-ази, $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ канали, і закриті K^+ канали напруження, регулюються ТГ, що призводить до збільшення інотропної та хронотропної дії [59 – 61]. Результати досліджень підтвердили раніше задокументовані ТГ-залежні гени, а також визначили вплив ТГ на регуляцію генів, залучених у метаболізм глюкози та ліпідів. Дослідження мікроРНК показали, що серцевий специфічний мікроРНК (miR-208), кодований нітроном α МНС гена, необхідний для гіпертрофії кардіоміоцитів, а його експресія регулюється ТГ. Серця miR-208 нокаутних мишей нагадують гіпертиреоїдні серця з фізіологічною гіпертрофією, з відсутністю фіброзу і зниженою експресією β -МНС. Результати цих досліджень свідчать про причетність miR-208 до ТГ-сигнального шляху і забезпечують новий механізм, за яким ТГ регулюють функції серця та гіпертрофію [59–61].

Тривале збільшення дії гормонів ЩЗ помітно стимулює синтез серцевих білків і призводить до концентричної гіпертрофії серця [61–63]. Повернення з гіпертиреозу до еутиреозу призводить до зміни гіпертрофії серця на нормальну серцеву конфігурацію. Крім того, менш широко визнаються ефекти ТГ на серцево-судинну систему з підвищенням ангиогенезу [26]. Гіпертиреоз призводить до зниження тонуусу гладких м'язів артеріальних судин і до помітного зниження серцевого післянавантаження.

Зміни тиреоїдного статусу помітно впливають на скорочення серця і електричну активність. Основним механізмом, згідно з яким Т3 впливає на серце, є безпосередній вплив на кардіоміоцити шляхом зв'язування з ТР. Крім того, Т3 модифікує серцеву діяльність завдяки змінам у судинній системі та зменшує постнавантаження лівого шлуночка, впливаючи на симпатичну нервову систему.

У моделях індукованої гіпертрофії серця гормонами ЩЗ задіяний обов'язковий підтримувальний ангиогенез. Відомо, що йодтироніни індукують неоваскуляризацію при різних умовах, у тому числі в серцевому м'язі, ішемічних м'язах і в ложі пухлини.

Фізіологічна гіпертрофія серця потребує пропорційного збільшення щільності капілярів серця, тимчасом як патологічна гіпертрофія серця при таких захворюваннях, як аортальний стеноз, дилатація або ішемічна кардіоміопатія, пов'язана зі зниженням капілярності. Таким чином, при фізіологічній або компенсаційній гіпертрофії серця стимуляторні сигнали росту повинні одночасно викликати експресію факторів росту для підтримки балансу між зростанням міозитів і коронарних кровоносних судин. Це було показано на моделі трансгенних мишей з Akt індукованою гіпертрофією міокарда, в якій підсилення ангиогенезу було пов'язане з mTOR-залежною індукцією фактора росту ендотелію судин серця (VEGF) і експресією ангиопоетину-2 в компенсаційній фазі гіпертрофії, тимчасом як пригнічення ангиогенезу призвело до прискорення переходу від компенсаторної гіпертрофії до серцевої недостатності [26, 36, 62, 63]. Отже, індукція ангиогенних факторів росту, таких як VEGF, є важливим компонентом у компенсаційній або фізіологічній гіпертрофії, а також кілька ангиогенних факторів транскрипції, зокрема GATA4, HIF-1 α , можуть бути активовані гіпертрофічними стимулами, у тому числі ТГ.

Молекулярний механізм проангіогенної дії гормонів ЩЗ є як генетичним, так і негенетичним. Він починається негенетично на поверхневих рецепторах для тиреоїдних гормонів на інтегрині $\alpha\beta 3$. Приводить до транскрипції декількох генів, відповідальних за ангиогенез. Гени включають основний

фактор росту фібробластів (bFGF) і VEGF. ТГ підтримують ангиогенез і коронарний кровотік у інфарктній тканині серця на експериментальних моделях і блокують патологічне ремоделювання серця, що інколи трапляється в таких тканинах. Гормони ЩЗ також індукують експресію гена *HIF1 α* , транскрипційного фактора, важливого для утворення колатералей коронарної артерії при гіпоксії. Гормони також викликають транскрипцію протеїну Gla (MGP) гена, який виступає проти кальцифікації гладких м'язів судин [26].

Оскільки інтегрин $\alpha V\beta 3$ бере участь в ангиогенезі, було встановлено, що Т4 приєднується до інтегрину $\alpha V\beta 3$ з високою спорідненістю. ТГ активують каскад MAPK і стимулюють ангиогенез шляхом зв'язування ТГ до інтегрину $\alpha V\beta 3$. Інтегрин $\alpha V\beta 3$ є поверхневим рецептором клітин для ТГ, за допомогою якого ініціюється негенетична дія; Т3 та Т4 впливають на ангиогенез і проліферацію пухлинних клітин через ці рецептори [64].

Утворення нових капілярів і артеріол служить для нормалізації перфузії у гіпертрофічному міокарді. Вивчаючи модель ангиогенезу на курячій хоріоалантоїдній мембрані, було показано, що проангіогенний ефект Т4 починається на ендотеліальній клітинній мембрані та залежить від підвищення експресії і секреції FGF. Повідомляється, що інтегрин $\alpha V\beta 3$ на поверхні клітин ендотелію рецепторів для Т4 індукує активацію ERK1/2 сигналізацію та розпочинає ангиогенез [64–68]. Нещодавно була запропонована потенційна роль ядерних TP у регулюванні коронарного ангиогенезу [64, 66]. Автори, які вивчали моделі трансгенних мишей, [65–68] повідомляють, що щільність серцевих капілярів була значно зменшена у TP β -дефіцитних мишей, але не у TP α -нокаутних, і припускають, що експресія TP β в ендотеліальних клітинах відіграє важливу роль в ангиогенезі. У моделі перевантаження тиском введення Т3 відновило щільність капілярів у міокарді шлуночків, нормалізувало рівень TP β . Ці дані підтверджують важливу роль ТГ і їх ендотеліальних інтегрин рецепторів і TP у неоваскуляризації при ТГ-індукованій фізіологічній гіпертрофії.

Крім того, роль TR / T3 у процесі згортання крові та клітинній міграції на сьогодні є не повністю зрозумілою. Попередні дані показали, що деякі білки плазми, протромбін, ангіотензиноген, гаптоглобін, комплемент, ліпопротеїди і фібриноген позитивно регулюються T3 у лінії клітин гепатоми, які високо експресували TR α 1, а також у печінці тиреоїдектомованих щурів. Повідомляється, що надлишок T3 був пов'язаний з підвищеним рівнем плазмового фібронектину та фібриногену, а рівень плазміногену був зниженим.

Активація каскаду згортання крові звичайно викликає інші відповіді гострої фази, такі як запалення. Було показано, що T3 також позитивно регулює низку інших білків плазми, пов'язаних із запаленням, гаптоглобін, інтерлейкін. Попередні результати показали, що рівень плазмового фактора VIII підвищується при гіпертиреозі. Крім того, значно збільшилася концентрація в плазмі таких білків, як фібронектин, інгібітор ангіотензин-перетворювального ферменту у гіпертиреозидних пацієнтів. Цікаво, що при помірному гіпотиреозі, знижується фібринолітична активність [67]. Таким чином, при гіпертиреозі є тенденція до виникнення артеріальної тромбоемболії. Крім того, крові хворих з гіпотиреозом була продемонстрована повна відсутність здатності до коагуляції. Це свідчить про те, що регулювання рівня T3 є надзвичайно важливим для можливості здійснення контролю процесу згортання крові [67, 68, 69].

1.5 TR α 1: переключення на функціонування за фетальним типом

TR α 1 рецептор відіграє важливу роль у патофізіології процесу ремоделювання серця. У компенсаторній фазі гіперекспресія TR α 1 без супровідного збільшення рівня TГ призводить до незв'язаного стану рецепторів (апо-рецепторів) таким чином, як це відбувається у фетальному періоді. Гіперекспресія TR α 1 в неонатальних кардіоміоцитах індукує гіпертрофію міоцитів незалежно від ліганду, тимчасом як експресія міозину

відбувалася за фетальним типом зі зниженням експресії α -МНС. Подібні ефекти не спостерігаються при гіперекспресії $TR\beta 1$ [70]. Крім того, у $TR\alpha 1$ -нокаутних тварин, у яких зв'язування ТЗ з $TR\alpha 1$ порушене, було відмічено підвищення експресії білка інгібітора SERCA2 фосфоламбану, порушення захоплення кальцію і скорочення кардіоміоцитів [22]. Цікаво, що стимуляція цих клітин β -адренергічними агоністами призвела до спонтанного вивільнення кальцію під час діастолічного його розпаду, що може бути причиною аритмії, яка трапляється при гіпертрофії серця у відповідь на стрес [22].

За класичним генетичним механізмом ТЗ, але не Т4, може впливати на експресію важливих структур міоцита та регуляторних протеїнів. Підвищена експресія швидких форм важкого ланцюга міозину α (myosin heavy chain α), SERCA2 та щільність $\beta 1$ -адренергічних рецепторів призводять до підсилення як систолічної, так і діастолічної функцій лівого шлуночка. За відсутності ТГ вплив на функціонування серця відбувається через активацію експресії повільної форми важкого ланцюга міозину β зі зниженням SERCA2 та підвищенням активності протеїну – інгібітора фосфоламбану [71].

1.5.1 $TR\alpha 1$: зміни у постнатальному функціонуванні. $TR\alpha 1$ мРНК експресія є більш значущою, ніж $TR\beta 1$ мРНК у серці плода, а після народження, навпаки відбувається зниження значення $TR\alpha 1$ мРНК та підвищення $TR\beta 1$ мРНК [72]. ТГ на ранніх стадіях розвитку плода представлені гормонами матері. Сукупність низької концентрації D1 та високої D3 у тканинах плода є відповіддю на низький рівень ТГ плода [73].

Таким чином, під час раннього ембріонального періоду $TR\alpha 1$ в основному присутній у вигляді апо-рецепторів (при відносно незв'язаному стані). Незв'язаний $TR\alpha 1$ здійснює сильну базальну транскрипційну репресію і має важливе значення для правильного розвитку плода. Потім він перетворюється на голо-рецептори (зв'язаний стан) протягом постнатального життя, тому що вміст ТГ збільшується і сприяє диференціації клітин [74, 75]. Під час постнатального періоду та у дорослих індивідуумів незв'язаний тип $TR\alpha 1$ може

привести до перепрограмування транскрипційних генів за фетальним типом, яке трапляється у стані хвороби.

У серці гіперекспресія $TR\alpha 1$ викликає гіпертрофію міоцитів незалежно від ліганду та фетального типу експресії ізоформ міозину. Додавання T3 змінює фенотип [70]. Крім того, кардіоміоцити у мишей з домінуючим негативним $TR\alpha 1$ мають підвищену експресію білка інгібітора SERCA2 фосфоламбану, порушення захвату кальцію і скорочення кардіоміоцитів [22].

Зміни у взаємодії ТГ / ТР відбуваються в ході постінфарктного ремоделювання серця і полягають у переході на експресію за фетальним типом. ТГ можуть «відновити» серце після інфаркту, запобігаючи експресії скорочувальних білків за фетальним типом, нормалізуючи напруження стінок та оптимізуючи геометрію серцевої камери. Цей ефект, можливо, пов'язаний з ТГ плейотропною клітинною дією; ТГ сприяють зростанню та диференціації тканин і реконструкції кардіоміоцитів. Гормони ЩЗ можуть стати упригоді при відновленні ішемічного міокарда [75].

$TR\alpha 1$ рецептор відіграє потенційну роль у регуляції процесу диференціації / дедиференціації [33] та основну – при регенерації, яка була викликана ушкодженням [25]. $TR\alpha 1$, хоча б частково, має обмежувальну дію на ТГ при реперфузії в експериментальній моделі ішемія-реперфузія. Механізми кардіопротекторної дії ТГ залишаються невідомими. Також показано, що $TR\alpha 1$ включені у патофізіологічний механізм постішемічної серцевої недостатності [76, 77].

Таким чином, наведені дані літературних джерел свідчать про актуальність проблеми, яка вивчається, а також про наявність окремих недосліджених та суперечливих моментів, які торкаються патофізіологічних механізмів гіпер- та гіпофункції ЩЗ, зокрема, розвиток ремоделювання, а саме, фіброзних змін за умов цієї патології. Ретельне дослідження процесів ремоделювання має бути підґрунтям для розробки патогенетично орієнтованої фармакологічної корекції дисфункції ЩЗ.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1 Методи моделювання гіпер- та гіпотиреозу у лабораторних тварин

Експериментальні дослідження були проведені на білих щурах обох статей. До експерименту залучали самців і самиць білих статевозрілих щурів масою 200-250 г без будь-яких клінічних ознак захворювання (умовно здорові). Експериментальні тварини утримувалися на повноцінній лабораторній дієті. Був використаний пероральний спосіб введення речовини в організм експериментальних тварин.

Підготовка тварин, усі втручання, знеболювання та виведення з експерименту здійснювалися у повній відповідності до вимог «Методичних рекомендацій» ДФЦ МОЗ України (Київ, 2001), а також правил GLP, що передбачено Європейською комісією з нагляду за проведенням лабораторних та інших досліджень, відповідно до Кодексу вченого України. Евтаназію тварин здійснювали з урахуванням положень, регламентованих додатком № 8 «Правила гуманного поводження з лабораторними тваринами», «Санітарних правил з обладнання, устаткування й утримування експериментально-біологічних клінік (віваріїв)» № 1045-73 [78-80].

Лабораторних щурів утримували в індивідуальних боксах з 12 годинною зміною світла та темряви, вологістю повітря 60 %, постійною температурою 22 ± 1 °C, з вільним доступом до води та їжі. З метою приручення, щурів перед початком експерименту тримали в руках 2-3 хвилини протягом 5 діб, що значно полегшувало експериментальні дослідження з тваринами.

2.1.1 Розподілення на групи. Експериментальні тварини обох статей були розподілені на три групи.

До першої групи увійшов 61 щур (31 самиця, 30 самців), яких протягом 14 днів утримували у стандартних умовах віварію окремо від піддослідних тварин.

Друга група – 89 щурів (45 самиць, 44 самці), яких доводили до стану стійкого гіпотиреозу шляхом щоденного додавання мерказоліла дозою 5 мкг на 100 г маси тіла (Мерказоліл, «Здоров'я», Україна, Р. п. № UA/4882/01/01) протягом 14 днів, розчиняючи його у питній воді [81–84].

Третій групі, 82 щури (41 самиця, 41 самець), моделювали стан стійкого гіпертиреозу шляхом щоденного введення тироксину (L-тироксин 50, Берлін-Хемі, Р. п. № UA/2990/01/02) протягом 14 днів, який розчиняли у питній воді, з розрахунку 50 мкг на 100 г маси тіла [83–88].

Вибір дози препарату ґрунтувався на підставі попередніх досліджень його фармакодинаміки [81, 83, 84, 86, 87], він є оптимальним для моделювання гіпертиреозу та гіпотиреозу у лабораторних щурів. Піддослідні тварини отримували препарати за загальноприйнятими методиками [81–84, 86, 87]. Критеріями гіпертиреоїдного статусу було досягнення рівнів Т4, що перевищували 25,0 пмоль/л, рівнів Т3, що перевищували 3,7 пмоль/л; гіпотиреоїдного статусу – відповідно рівнів Т4, що не перевищували 10,0 пмоль/л та Т3, що не перевищували 1,0 пмоль/л [81–87].

Після закінчення досліджень, через 2 тижні, проводили евтаназію тварин під легким хлороформним наркозом, при цьому щурів поміщали у невелику закриту посудину, ексикатор, потім їх декапітували, брали кров і вилучали органи. Матеріалом для подальшого дослідження була кров та органи щурів – серце, печінка, нирки, сім'яники у самців та матка у самиць. У всіх лабораторних щурів після закінчення експерименту досліджували біохімічні показники крові – рівень ТГ (вільного Т4 (в. Т4), вільного Т3 (в. Т3), статевих гормонів (тестостерону у самців, естрадіолу та прогестерону у самиць), ензиматичну активність DNMT і визначали патоморфологічні зміни органів (серця, печінки, нирок, сім'яників у самців та матки у самиць). Кров у об'ємі 2–

2,5 мл брали після декапітації тварин. Частину крові одразу ж заморожували у рідкому азоті, а потім визначали активність DNMT.

2.1.2 Сполуки та реактиви, використані в роботі. Тироксин (L-тироксин 50, Берлин-Хеми, Р.п. № UA/2990/01/02), мерказоліл (Мерказоліл, Здоров'я, Україна, Р.п. № UA/4882/01/01).

Вміст гормонів визначали за допомогою наборів для імуноферментного аналізу (ІФА) для в. Т4, в. Т3, естрадіолу, прогестерону, тестостерону («Хема-Медика», Росія – Італія) [89, 90]. Активність ДНК-метилтрансферази визначали за допомогою набору для виділення ядер з клітин крові щурів (EpiQuik Nuclear extraction kit) та набору для визначення активності ДНК-метилтрансферази (EpiQuik DNA methyltransferase activity assay kit) (оптична щільність/годин/мг – ОЩ/г/мг).

2.1.3 Б а з и : Згідно з метою і завданнями на базі лабораторії кафедри анатомії людини ОНМедУ, науково-дослідницької лабораторії ОНМедУ, патологоанатомічному відділення Центру (Університетської клініки) ОНМедУ та лабораторії НДІ медичної реабілітації і курортології (Одеса) були проведені біохімічні, патоморфологічні дослідження у групах піддослідних тварин.

2.2 Визначення вмісту гормонів у крові

Рівень гормонів визначали за допомогою наборів ІФА для в. Т4, в. Т3, естрадіолу, прогестерону, тестостерону («Хема-Медика», Росія – Італія) [89, 90] згідно з доданою інструкцією, але з попереднім розтитруванням усіх наборів і підбором оптимального розведення сироваток крові щурів, виконанням тесту внутрішнього стандарту для кожного набору. Результати підраховували автоматично за допомогою спектрофотометра типу UV-mini 1240 (Японія) при довжині хвилі 450 нм. Вміст гормонів наводиться у відносних величинах та у

відсотковому співвідношенні, порівнюючи дані експериментальних груп з контролем. Значення рівня гормонів контролю вважали за 1,0, або 100 %.

2.2.1 Методика визначення вільного трийодтироніну у крові. Згідно з даною методикою рівень в. ТЗ в сироватці крові визначається методом конкурентного ІФА.

До складу набору входить комплект з 28-лункових стріпів у рамці з іммобілізованими на внутрішній поверхні лунок моноклональними антитілами до в. ТЗ; калібрувальні проби на основі сироватки крові, які містять відому кількість в. ТЗ; кон'югат трийодотирозин-пероксидаза; концентрований буферний розчин для промивання лунок; розчин тетраметилбензидіну (ТМБ); стоп-реагент; контрольна сироватка з відомим вмістом в. ТЗ.

Принцип роботи набору полягає в тому, що в. ТЗ зі зразка конкурує з кон'югованим ТЗ за зв'язування з антитілами на поверхні лунок. У результаті утворюється зв'язаний з пластиком «сендвіч», який містить пероксидазу. Під час інкубації з ТМБ відбувається забарвлення розчину в лунках. Інтенсивність забарвлення обернено пропорційна вмісту в. ТЗ у досліджувальних зразках.

Проведення аналізу: готуємо відповідну кількість реагентів, які ретельно перемішуємо і доводимо до кімнатної температури. Маркуємо лунки. Вносимо у відповідні лунки по 50 мкл калібрувальних проб і контрольну сироватку, а в лунки, що залишилися – по 50 мкл досліджуваної сироватки крові у дублікатах. Інкубуємо стріпи протягом 1,5 год при 37 °С. Видаляємо вміст лунок декантуванням і промиваємо їх, додаємо по 250 мкл промивного буфера, струшуємо рамку на шейкері протягом 5–10 с з подальшим декантуванням. Після цього негайно вносимо в усі лунки по 100 мкл розчину ТМБ. Інкубуємо стріпи протягом 10-20 хв. Додаємо в усі лунки розчин ТМБ, по 100 мкл стоп-реагенту, струшуємо на шейкері 1-2 хвилини. Вимірюємо на фотометрі вертикального сканування оптичну щільність розчину в лунках при довжині хвилі 450 нм.

Для калібрування проб будуємо графік у лінійних координатах залежності оптичної щільності при довжині хвилі 450 нм від вмісту в.Т3 у калібрувальних пробах (пмоль/л) і визначаємо вміст в.Т3 у зразках за графіком.

2.2.2 Методика визначення вільного тироксину в сироватці крові. Згідно даної методики вміст в. Т4 визначається методом конкурентного ІФА.

До складу набору входять: комплект з 28-лункових стріпів у рамці з іммобілізованими на внутрішній поверхні лунок моноклональними антитілами до в. Т4; калібрувальні проби на основі сироватки крові, які містять відому кількість Т4; кон'югат тироксин-пероксидаза; концентрований буферний розчин для промивання лунок; розчин ТМБ; 10 % сірчану кислоту (стоп-реагент); контрольна сироватка з відомим вмістом в. Т4.

Принцип роботи набору полягає у тому, що в. Т4 зі зразка конкурує з кон'югованим Т4 за зв'язування з антитілами на поверхні лунок. У результаті утворюється зв'язаний з пластиком «сендвіч», який містить пероксидазу. Під час інкубації з ТМБ розчин у лунках забарвлюється. Інтенсивність забарвлення обернено пропорційна вмісту в. Т4 у досліджуваних зразках.

Проведення аналізу: готуємо відповідну кількість реагентів. Маркуємо лунки. У відповідні лунки вносимо по 25 мкл калібрувальних проб і контрольну сироватку крові, у лунки ж, що залишилися, – по 25 мкл досліджуваної сироватки крові у дублікатах. До всіх лунок вносимо по 100 мкл розчину кон'югату Т4-пероксидази. Інкубуємо стріпи 1 год при 37 °С. Виділяємо вміст лунок декантуванням і промиваємо їх 5 разів. Негайно вносимо в усі лунки по 100 мкл розчину ТМБ. Інкубуємо стріпи протягом 10-20 хв. Додаємо в усі лунки по 100 мкл стоп-реагенту, струшуємо на шейкері 2 хв. Вимірюємо на фотометрі вертикального сканування оптичну щільність у лунках при довжині хвилі 450 нм. Для калібрування проб будуємо графік в лінійних координатах залежності оптичної щільності при довжині хвилі 450 нм від рівню в. Т4 в

калібрувальних пробах (нмоль/л) і визначаємо вміст в.Т4 у зразках за калібрувальним графіком.

2.2.3 Методика визначення тестостерону в сироватці крові. Згідно з даною методикою рівень тестостерону визначається методом конкурентного ІФА.

До складу набору входять: комплект з 28-лункових стріпів у рамці з іммобілізованими на внутрішній поверхні лунок моноклональними антитілами до тестостерону; калібрувальні проби на основі сироватки крові, які містять відому кількість тестостерону; кон'югат; концентрований буферний розчин для промивання лунок; розчин ТМБ; стоп-реагент; контрольна сироватка з відомим вмістом тестостерону.

Принцип роботи набору полягає у тому, що тестостерон зі зразка конкурує з кон'югованим тестостероном за зв'язування з антитілами на поверхні лунок. У результаті утворюється зв'язаний з пластиком «сендвіч», який містить пероксидазу. Під час інкубації з ТМБ розчин в лунках забарвлюється. Інтенсивність забарвлення обернено пропорційна вмісту тестостерону у досліджуваних зразках.

Проведення аналізу: готуємо відповідну кількість реагентів. Маркуємо лунки. У відповідні лунки вносимо по 25 мкл калібрувальних проб і контрольну сироватку, в лунки ж, що залишилися, – по 25 мкл досліджуваної сироватки у дублікатах. В усі лунки вносимо по 100 мкл розчину кон'югата. Інкубуємо стріпи 1,5 год при 37 °С. Виділяємо вміст лунок декантуванням і промиваємо їх 5 разів. Негайно вносимо в усі лунки по 100 мкл розчину ТМБ. Інкубуємо стріпи протягом 10-20 хв. Додаємо в усі лунки по 100 мкл стоп-реагенту, струшуємо на шейкері 2 хв. Вимірюємо на фотометрі вертикального сканування оптичну щільність у лунках при довжині хвилі 450 нм. Для калібрування проб будуємо графік в лінійних координатах залежності оптичної щільності при довжині хвилі 450 нм від рівню тестостерону в калібрувальних

пробах (нмоль/л) і визначаємо вміст тестостерону у зразках за калібрувальним графіком.

2.2.4 Методика визначення прогестерону в сироватці крові. Згідно з даною методикою вміст прогестерону визначається методом конкурентного ІФА.

До складу набору входять: комплект з 28-лункових стріпів у рамці з іммобілізованими на внутрішній поверхні лунок моноклональними антитілами до прогестерону; калібрувальні проби на основі сироватки крові, які містять відому кількість прогестерону; кон'югат; концентрований буферний розчин для промивання лунок; розчин ТМБ; стоп-реагент; контрольна сироватка крові з відомим вмістом прогестерону.

Принцип роботи набору полягає в тому, що прогестерон зі зразка конкурує з кон'югованим прогестероном за зв'язування з антитілами на поверхні лунок. У результаті утворюється зв'язаний з пластиком «сендвіч», який містить пероксидазу. Під час інкубації з ТМБ розчин у лунках забарвлюється. Інтенсивність забарвлення оборотно пропорційна рівню прогестерону у досліджуваних зразках.

Проведення аналізу: готуємо відповідну кількість реагентів. Маркуємо лунки. У відповідні лунки вносимо по 25 мкл калібрувальних проб і контрольну сироватку крові, у лунки ж, що залишилися, – по 25 мкл досліджувальної сироватки крові у дублікатах. До всіх лунок вносимо по 100 мкл розчину кон'югату. Інкубуємо стріпи 1,5 год при 37 °С. Виділяємо вміст лунок декантуванням і промиваємо їх 5 разів. Негайно вносимо в усі лунки по 100 мкл розчину ТМБ. Інкубуємо стріпи протягом 10–20 хв. Додаємо в усі лунки по 100 мкл стоп-реагенту, струшуємо на шейкері 2 хв. Вимірюємо на фотометрі вертикального сканування оптичну щільність в лунках при довжині хвилі 450 нм. Для калібрування проб будуємо графік у лінійних координатах залежності оптичної щільності при довжині хвилі 450 нм від рівню прогестерону в

калібрувальних пробах (нмоль/л) і визначаємо вміст прогестерону у зразках за калібрувальним графіком.

2.2.5 Методика визначення естрадіолу в сироватці крові. Згідно з даною методикою вміст естрадіолу визначається методом конкурентного ІФА.

До складу набору входять: комплект з 28-лункових стріпів у рамці з іммобілізованими на внутрішній поверхні лунок моноклональними антитілами до естрадіолу; калібрувальні проби на основі сироватки крові, які містять відому кількість естрадіолу; кон'югат; концентрований буферний розчин для промивки лунок; розчин ТМБ; стоп-реагент; контрольна сироватка крові з відомим вмістом естрадіолу.

Принцип роботи набору полягає у тому, що естрадіол зі зразка конкурує з кон'югованим естрадіолом за зв'язування з антитілами на поверхні лунок. У результаті утворюється зв'язаний з пластиком «сендвіч», який містить пероксидазу. Під час інкубації з ТМБ розчин у лунках забарвлюється. Інтенсивність забарвлення оборотно пропорційна рівню естрадіолу у досліджуваних зразках.

Проведення аналізу: готуємо відповідну кількість реагентів. Маркуємо лунки. У відповідні лунки вносимо по 25 мкл калібрувальних проб і контрольну сироватку крові, в лунки ж, що залишилися, – по 25 мкл досліджуваної сироватки у дублікатах. До всіх лунок вносимо по 100 мкл розчину кон'югату. Інкубуємо стріпи 1,5 год при 37 °С. Виділяємо вміст лунок декантуванням і промиваємо їх 5 разів. Негайно вносимо в усі лунки по 100 мкл розчину ТМБ. Інкубуємо стріпи протягом 10–20 хв. Додаємо в усі лунки по 100 мкл стоп-реагенту, струшуємо на шейкері 2 хв. Вимірюємо на фотометрі вертикального сканування оптичну щільність в лунках при довжині хвилі 450 нм. Для калібрування проб будуємо графік в лінійних координатах залежності оптичної щільності при довжині хвилі 450 нм від рівню естрадіолу в калібрувальних

пробах (нмоль/л) і визначаємо вміст естрадіолу у зразках за калібрувальним графіком.

2.3 Визначення активності ДНК-метилтрансфери

Загальна активність DNMT визначається нерадіоактивним методом. У стріпах набору міститься збагачений цитозином ДНК субстрат. Ензим DNMT переносить метильну групу до цитозину для метилування ДНК субстрату. Метильована ДНК може бути упізнана 5'-метилцитозин антитілами. Кількість DNMT з її пропорційною ензиматичною активністю може бути визначена колориметрично за допомогою ІФА на спектрофотометрі типу UV-mini 1240 (Японія). Матеріалом для дослідження була кров щурів, яку одразу ж після взяття заморожували у рідкому азоті.

Принцип методу полягає у виділенні ядер з клітин крові щурів за допомогою набору EpiQuik Nuclear exTraction kit, інкубації екстракту у буферах, додаванні антитіл, визначенні оптичної щільності, розрахунку активності DNMT.

Виділення ядерного екстракту здійснювали так:

1. Кров розморозили при кімнатній температурі.
2. Центрифугували 5 хвилин при 1000 об./хв.
3. Видалили надосадову рідину.
4. Промили згусток крові фосфатним буфером.
5. Центрифугували 5 хв при 1000 об./хв.
6. Ресуспензували клітинний осад з розчином преекстракційного буферу x1 з інгібіторами протеаз.
7. Інкубували протягом 10 хв на льоду.
8. Ретельно змішали вміст пробірки за допомогою вортекса.

9. Центрифугували протягом 1 хв при 12000 об./хв.
10. Ретельно відокремили цитоплазмовий надосад від ядерного осаду.
11. Додали до осаду розчин DTT, інгібітор протеаз та екстракційний буфер.
12. Інкубували протягом 15 хв на льоду та кожні 5 хв змішували на вортексі.
13. Центрифугували протягом 10 хв при 14000 об./хв при 4°C.
14. Виділили супернатант і помістили його у чисті пробірки.
15. Виміряли концентрацію протеїнів у отриманому ядерному екстракті за допомогою Bradford Reagent на спектрофотометрі з довжиною хвилі 560 нм, порівнюючи дані з контролем. Контролем був бичачий сироватковий альбумін з різною концентрацією (0, 0,25, 0,5, 1,0, 1,4, 2 мг/мл).

Принцип методу полягає у виділенні ядерного екстракту зі зразків, інкубації екстракту у буферах, додавання антитіл, визначення оптичної щільності, розрахунку активності DNMT.

Визначення активності DNMT:

1. Додати у лунки буфер і розчин Adomet.
2. У лунки, у яких повинні бути зразки, додати зразки згідно з концентрацією протеїну.
3. У лунки з позитивним контролем додати розчин позитивного контролю з буфером.
4. У лунки з негативним контролем додати прокаїнамід у гідрохлорид у різних концентраціях (10 та 1 мкг/мл).
5. В одну лунку додати тільки буфер.
6. Розмішати вміст лунок, накрити парафільмом та інкубувати 1,5 год при 37°C.
7. Видалити вміст лунок та промити їх тричі миючим буфером.
8. Додали 50 мкл захоплюючих антитіл до кожної лунки та інкубувати протягом 60 хв при кімнатній температурі на шейкері зі струшуванням.
9. Видалити вміст лунок та промити їх 4 рази миючим буфером.

10. Додати 50 мкл виявляючих антитіл до кожної лунки та інкубувати протягом 30 хв при кімнатній температурі.
11. Видалити вміст лунок та промити їх 5 раз миючим буфером.
12. Додати 100 мкл проявляючого розчину до кожної лунки та інкубувати протягом 5 хв у темряві до блакитного кольору.
13. Додати 50 мкл Stop solution до кожної лунки та виміряти оптичну щільність при довжині хвилі 450 нм.
14. За допомогою формули підрахувати активність ДНК-метилтрансферази у зразках (ОЩ/год/мкг):

$$\text{активність DNMT} = \frac{\text{ОЩ інгібітора} - \text{Blank}}{\text{К протеїну (мкг)} * t} * 1000 ,$$

де ОЩ інгібітора – оптична щільність інгібітора;

К протеїну – концентрація протеїну (мкг);

t – час (год).

2.4. Патоморфологічне дослідження органів

Шматочки органів (завтовшки не більше 5 мм) фіксували у 10 % розчині нейтрального формаліну протягом 24 год при температурі 37 °С. Далі проводилася стандартна дегідратація, парафінізація шматочків у парафінові блоки за загальноприйнятою методикою (промивання в проточній воді 2 год, по 30 хв у спиртах з висхідною концентрацією 70, 80, 90 %, 3 зміни по 1 год у 100 % етанолі, 15 хв у розчині 1:1 ксилол/етанол, 2 зміни по 30 хв у ксилолі, 30 хв при 56 °С у розчині 1:1 ксилол/парафін, 2 зміни при 56° С по 1 год у парафіні, заливка). Зрізи завтовшки 3-5 мкм отримували на роторному мікротомі Leica одноразовими ножами Leica. Забарвлювали зрізи за стандартною методикою гематоксилін-еозином (підготовленими розчинами гематоксиліну Майєра, Карацци («БіоОптика», Італія)) та за ван Гізоном. Зрізи

покривали канадським бальзамом та покривним склом. Гістологічні препарати вивчали на мікроскопі Leica DM750 з фото-відеовиходом, камерою (5М пікселей).

Опис патоморфологічних змін подавали із зазначенням відносної частоти зустрічальності ознак і відсоткової складової кожної ознаки в експериментальних групах.

2.4.1 Морфометричне дослідження тканин. Згідно з принципом М. Delesse, частка площі, що містить досліджуваний компонент, дорівнює його частці в об'ємі досліджуваного об'єкта. При виготовленні гістологічного препарату кожна структура зазвичай є неорієнтованим зрізом розрізаної навмання тканини; n-запланований зріз відображає кількісне співвідношення в об'ємі досліджуваної тканини. Стереометричний аналіз структурної організації тканин і клітин ґрунтується на статистичних методах і потребує дотримання двох умов: по-перше, досліджувана структура повинна бути представленою в об'ємі, її характеристики повинні бути статистично однаковими у всьому об'ємі клітини; по-друге, необхідна однозначна відповідність характеристик двовимірних зразків, тобто зрізів і просторових (об'ємних) структур. При такому визначенні тривимірної організації біологічних об'єктів можна отримати кількісні співвідношення між середніми розмірами великої кількості мікро- і ультраструктур і розмірами їх профілів на зрізі. У цьому разі сукупність профілів структур на одиниці площі зрізу клітини кількісно представляє сукупність даних структур в одиниці об'єму.

Аналіз у нашому експерименті проводили при мікроскопічному дослідженні за допомогою окулярної вставки («окулярної сітки») зі 100 рівновіддаленими точками у прямокутнику [91, 92]. За формулою: діаметр (D) окуляра (20) / об'єктив (20) / коефіцієнт тубуса (1) підраховуємо D поля зору, що становить 1 мм, тобто радіус (R) – 0,5 мм. Площа (S) поля зору дорівнює $S = \pi R^2 = 3,14 \times 0,25 = 0,785 \text{ мм}^2$. За допомогою об'єкта-мікрометра розраховується ціна поділу шкали «m» окулярної сітки для кожного об'єктива (калібрування)

індивідуально за формулою: $m = a \times c / b$, де a – кількість поділок по шкалі об'єкт-мікрометра; b – відповідна їм кількість поділок шкали окулярної сітки; c – величина однієї поділки об'єкта-мікрометра. На окуляр встановлюється окулярна сітка. Окуляр обертається навколо осі, що дозволяє разом із переміщенням препарату за допомогою предметного столика точно позиціонувати об'єкт для вимірювання. Подальші розрахунки проводили за формулою: $x = a \times b$, де x – довжина вимірюваного об'єкта; a – кількість поділок шкали окулярної сітки; b – ціна поділки окулярної сітки з об'єктивом, використаним для вимірювання. Поділка шкали дорівнює 0,005 мм, усього 270 поділок на шкалі. Таким методом визначили площу, яку займає досліджуваний компонент на плоскому зрізі. Для визначення середнього значення площі досліджуваних структур на зрізі проводили аналіз мінімум 10 полів зору одного препарату з однієї тканини при збільшенні $\times 200$ у 20 щурів групи гіпертиреозу (10 самиць, 10 самців), 20 щурів гіпотиреоїдної групи (10 самиць, 10 самців) і 10 контрольних щурів (5 самиць, 5 самців). З кожного блоку органів брали 2 зрізи. Результати вимірювань обробляли статистично і подавали у вигляді відсотка об'єму сполучної тканини ($M \pm m$). На підставі цього значення обчислювали об'єм паренхіми у 100 %. Отримані дані про об'єм сполучної тканини та паренхіми стали основою для підрахунку паренхіматозно-мезинхімального індексу. У нашому дослідженні ми проводили вимірювання таких параметрів:

- A_{ai} – об'ємна частка структури (відсоток мезенхіми від загальної площі). Паренхіматозно-мезинхімальний індекс (абсолютне число);

- D_i – діаметр кардіоміоцитів (мкм);

- D – кількість статевих клітин (сперматозоїдів, сперматид) у сім'яниках.

Для визначення середніх значень кількості статевих клітин взагалі та сперматозоїдів і сперматид окремо накладали окулярну сітку зі 100 рівновіддаленими точками у прямокутнику та підраховували їх кількість при

збігу точки сітки та клітини. Статеві клітини підраховували у 10 полях зору, діаметром 1 мм кожне, при збільшенні $\times 200$.

2.5 Методи статистичного аналізу

Обробку отриманих результатів проводили за допомогою програми PRIMER і електронних таблиць Microsoft Excel 2010. Результати подані у вигляді $(M \pm m)$.

Перед початком аналізу варіаційні ряди тестували на нормальність з використанням критерію Колмогорова–Смирнова для перевірки рівності генеральних дисперсій за допомогою критерію Фішера [93, 94]. Критерій Колмогорова–Смирнова дозволяє оцінити вірогідність нульової гіпотези про те, що виборча сукупність представляє генеральну сукупність, що має нормальний розподіл і розраховується за формулою:

$$D = \max_{1 \leq i \leq N} \left| F(Y_i) - \frac{i}{N} \right|,$$

де F – теоретичний розподіл;

N – розмір вибірки.

При значенні D менше критичного приймалася нульова гіпотеза, при перевищенні цього значення – альтернативна гіпотеза про інший характер розподілення.

Гіпотеза про рівність дисперсій двох нормальних генеральних сукупностей приймалась, якщо відношення більшої дисперсії до меншої було менше критичного значення розподілу Фішера [94]:

$$F_{crit} = \frac{S_1^2}{S_2^2}, \quad \text{при} \quad F_{crit} < F_{\alpha, \nu_1, \nu_2},$$

де α – рівень значущості;

ν_1 і ν_2 - степені вільності для дисперсій вибірок, які порівнюються;

S_1 і S_2 – значення дисперсій порівнюваних вибірок.

Після підтвердження нормальності розподілу ознак і рівності дисперсій для порівняння груп і перевірки гіпотези про рівність центрів розподілу у вибірках, що представляють кількісні дані, отримані для різних клінічних груп, використовували критерій Стьюдента, який визначали за формулою:

$$t = \frac{(\bar{X}_1 - \bar{X}_2)}{\sqrt{\frac{S_1^2}{N_1} + \frac{S_2^2}{N_2}}},$$

де S_1 і S_2 – значення дисперсій порівнюваних вибірок;

X_1 і X_2 – оцінки середніх значень;

N_1 і N_2 – розміри вибірок.

Нульова гіпотеза ($H_0: \bar{X}_1 = \bar{X}_2$ проти $H_1: \bar{X}_1 \neq \bar{X}_2$) приймалася, якщо за абсолютною величиною критеріального значення було більше максимуму t -розподілу, взятого з v -степенями свободи, тобто при $|t| > t_{v,\alpha/2}$.

Альтернативна гіпотеза ($H_0: \bar{X}_1 \leq \bar{X}_2$ проти $H_1: \bar{X}_1 > \bar{X}_2$) приймалася, якщо за абсолютною величиною критеріального значення було більше максимуму t -розподілу, взятого з v -степенями свободи при $|t| > t_{v,\alpha}$.

Використовували непараметричні критерії (Вілкоксона, оцінюючи відмінності двох взаємопов'язаних сукупностей; кореляційний аналіз проводили за допомогою коефіцієнта Пірсона – r) [93, 94].

Для усіх видів аналізу статистично значущими вважали значення $p < 0,05$. Довірчий інтервал у всіх досліджах розраховувався при рівні значущості $P \leq 0,05$, що гарантує вірогідність результатів з імовірністю 0,95 [93–95].

РОЗДІЛ 3

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ

3.1. Динаміка змін біохімічних показників крові щурів із відтвореним гіпертиреозом та гіпотиреозом

Для об'єктивного підтвердження наявності стану гіпертиреозу та гіпотиреозу у лабораторних тварин в експериментальних групах, визначали рівень в. Т4, в. Т3. Для виявлення впливу зміненого рівню ТГ на продукцію статевих гормонів був вивчений вміст естрадіолу, прогестерону у самиць і тестостерону у самців. Рівень гормонів наводиться у відносних одиницях та у відсотковому співвідношенні, порівнюються дані експериментальних груп і контролю. Значення рівню гормонів контрольної групи вважали за 100 %.

3.1.1. Рівень гормонів у крові самиць щурів з експериментальним гіпертиреозом і гіпотиреозом. У табл. 3.1 показано, що гіпотиреоїдний стан у самиць призводить до вірогідного зниження в. Т3 у 2,6 разу ($p < 0,001$), в. Т4 у 2,9 разу ($p < 0,001$) порівняно з аналогічними показниками в контрольних спостереженнях. При вивченні рівню статевих гормонів у гіпотиреоїдних самиць зареєстровано такі зміни: вміст естрадіолу та прогестерону перевищувала майже удвічі показники контрольної групи, що становить 182,1 % та 183,7 % відповідно порівняно з контролем ($p < 0,001$).

При моделюванні гіпертиреозу у самиць щурів у крові відзначалися такі зміни рівню гормонів: вірогідно підвищувався рівень в. Т3 удвічі (що складає 207 % від значення контрольної групи, $p < 0,001$) та в. Т4 – у 1,8 рази вище за значення контролю (239 %). Вміст естрадіолу перевищувала значення контрольної групи у 1,5 рази (150 %), а прогестерону – у 1,7 рази, що становить 178,7 % у порівнянні з контролем.

У самиць з гіпертиреозом визначився зворотний зв'язок середньої сили між рівнем в. Т3 та прогестерону ($r=-0,54$; $p<0,05$), тобто була виявлена вірогідна залежність між вмістом ТГ (в. Т3) та рівнем статевих гормонів (прогестероном) у самиць. У контрольній групі був виявлений зворотний зв'язок середньої сили між вмістом в. Т3 та естрадіолом ($r=-0,49$; $p<0,05$), в. Т4 та прогестероном ($r=-0,4$; $p<0,05$).

Таким чином, при моделюванні гіпотиреозу у самиць на фоні зниження рівню гормонів ЩЗ відбувається підвищення рівня статевих гормонів, а при експериментальному гіпертиреозі – зростання рівнів ТГ і статевих гормонів. Результати досліджень гормонального стану самиць наводяться у роботах [82, 96].

Таблиця 3.1

Рівень гормонів у крові самиць щурів з експериментальним гіпертиреозом і гіпотиреозом

Досліджуваний показник	Контроль, n=31	Гіпертиреоїдні самиці, n=41	Гіпотиреоїдні самиці, n=45
в.Т4, пмоль/л	17,86±0,84	33,82±8,43 *, **	6,07±0.85 *
в.Т3, пмоль/л	2,280±0,008	4,730±0,002 *, **	0,870±0,006 *
Естрадіол, нмоль/л	0,280±0,014	0,420±0,002 *	0,510±0,035 *
Прогестерон, нмоль/л	54,92±4,15	98,18±20,69 #	100,92±29,44 *

Примітки:

1. * – вірогідна різниця між експериментальною групою та контролем ($p<0,001$);
2. # – вірогідна різниця між експериментальною групою та контролем ($p<0,05$);
3. ** – вірогідна різниця між обома експериментальними групами ($p<0,001$).

3.1.2 Рівень гормонів у крові самців щурів з експериментальним гіпертиреозом і гіпотиреозом. При моделюванні гіпертиреозу самцям щурів рівень ТГ вірогідно перевищував значення у контрольній групі – у 3,6 раз в. Т4, що складає 367,9 % ($p < 0,001$), та у 2,5 рази в. Т3 – 251,6 % ($p < 0,001$). Рівень тестостерону вірогідно знижувалась у 2,6 разу, що дорівнює 37,5 % ($p < 0,001$) у порівнянні з контролем (табл. 3.2).

Таблиця 3.2

Рівень гормонів у крові самців щурів з експериментальним гіпертиреозом та гіпотиреозом

Досліджуваний показник	Контроль самці, n=30	Гіпертиреоїдні самці, n=41	Гіпотиреоїдні самці, n=44
в. Т4, пмоль/л	21,30±0,84	78,38±7,60 *, **	5,90±0,08 #
в. Т3, пмоль/л	2,790±0,013	7,02±0,17 *, **	1,380±0,008 *
Тестостерон, нмоль/л	19,00±0,77	7,14±0,14 *, **	16,40±1,57 #

Примітки:

1. * – вірогідна різниця між експериментальною групою та контролем ($p < 0,001$);
2. # – вірогідна різниця між експериментальною групою та контролем ($p < 0,05$);
3. ** – вірогідна різниця між обома експериментальними групами ($p < 0,001$).

У гіпотиреоїдних самців визначили вірогідне зниження вмісту як в. Т4 у 3,6 разу ($p < 0,05$), так і в. Т3 у 2 рази ($p < 0,001$). Тобто у самців з експериментальним гіпотиреозом вміст в. Т4 знизилася на 72,4 % і в. Т3 – на 50,6 % порівняно з контролем. Також слід відзначити майже незмінений рівень тестостерону у гіпотиреоїдних самців, що становить 86,3 % у порівнянні з

даними контролю ($p < 0,05$). У табл. 3.2 наведені показники рівню гормонів у крові самців з експериментальних груп.

При підрахунку коефіцієнта рангової кореляції Пірсона був визначений статистично значущий зворотний зв'язок середньої сили між рівнем в. Т4 та тестостерону у гіпертиреоїдних самців ($r = -0,61$, $p < 0,05$). У контрольній групі самців був виявлений зворотній зв'язок середньої сили між вмістом в. Т4 і тестостероном ($r = -0,53$, $p < 0,05$), в. Т3 та тестостероном ($r = -0,54$, $p < 0,05$) та прямий зв'язок середньої сили між в. Т4 та в. Т3 ($r = 0,52$, $p < 0,05$).

Отже, при експериментальному гіпертиреозі та гіпотиреозі у самців відбувалося відповідно підвищення та зниження рівню ТГ. Вміст тестостерону знизилась при гіпертиреозі та не змінилася при гіпотиреозі. Результати досліджень гормонального стану самців опубліковані у роботах [82, 96].

Рівень в. Т3 у гіпотиреїдних самців знижується у 1,5 рази більше, ніж у самиць. У гіпертиреоїдних самців рівень в. Т3 підвищувався у 1,48 рази більше, ніж у гіпертиреоїдних самиць. Рівень в. Т4 підвищувався у 2,3 разу більше у самців, ніж у самиць з гіпертиреозом. Результатом впливу гіпертиреозу на рівень статевих гормонів у самиць стало підвищення рівня естрадіолу та прогестерону, у самців – зниження рівня тестостерону. При експериментальному гіпотиреозі виявили підвищення рівня статевих гормонів у самиць та майже незмінений рівень тестостерону у самців.

3.1.3 Характер зміни ензиматичної активності ДНК-метилтрансферази у щурів з гіпертиреозом і гіпотиреозом в залежності від статі. При системному стійкому зрушенні ТГ відбувається альтеруючий вплив на органи [9–12]. Механізми цих змін мають як генетичний, так і негенетичний характер. Метилування ДНК є найкраще вивченим епігенетичним чинником, який відіграє ключову роль у продукції стабільних змін експресії генів у нормі. Зміни в метилуванні ДНК можуть призвести до сайленсингу зазвичай активних генів або активації зазвичай неактивних генів. Патогенетична роль метилування показана в багатьох дослідженнях. Однак даних про вивчення впливу

метилування на активність фіброгенезу при дисфункції ЩЗ нами не було знайдено. У зв'язку з цим була вивчена активність DNMT на лабораторних тваринах експериментальних груп.

При аналізуванні активності DNMT у крові тварин залежно від експериментально створеного стану та від статі щурів, нами були виявлені зміни ферментативної активності DNMT (табл. 3.3, рис. 3.1).

Таблиця 3.3

Активність ДНК-метилтрансферази у самців і самиць
з експериментальним гіпертиреозом і гіпотиреозом (ОЩ/год/мг)

Експериментальні групи	Кількість тварин, n	Активність DNMT, ОЩ/год/мг
Гіпертиреоїдні самці	n=13	128,22±23,60 *, **
Гіпертиреоїдні самиці	n=20	128,54±17,10 *, **
Гіпотиреоїдні самці	n=14	72,57±8,90 *
Гіпотиреоїдні самиці	n=20	75,48±7,20 *
Контроль самці	n=10	14,97±1,14
Контроль самиці	n=12	15,47±1,10

Примітки:

1. * – вірогідна різниця між експериментальною групою та контролем ($p < 0,001$);
2. ** – вірогідна різниця між обома експериментальними групами ($p < 0,001$).

При моделюванні стану гіпертиреозу активність DNMT у самців підвищувалась у 8,5 рази ($p < 0,001$) порівняно з контрольною групою та у 4,8 рази ($p < 0,001$) при гіпотиреозі. У свою чергу, зміна активності метилування у самиць була такою: у 8,3 разу вищою ($p < 0,001$) при гіпертиреозі та у 4,8 разу ($p < 0,001$) – при гіпотиреозі порівняно з контролем. Активність ферменту при гіпертиреозі у самців і самиць перевищувала показники при гіпотиреозі у 1,7

разу. У самиць з гіпотиреозом визначався позитивний зв'язок середньої сили між рівнем Т3 і активністю DNMT ($r=0,54$; $p<0,05$), тобто була виявлена вірогідна залежність між вмістом ТГ й активністю DNMT.

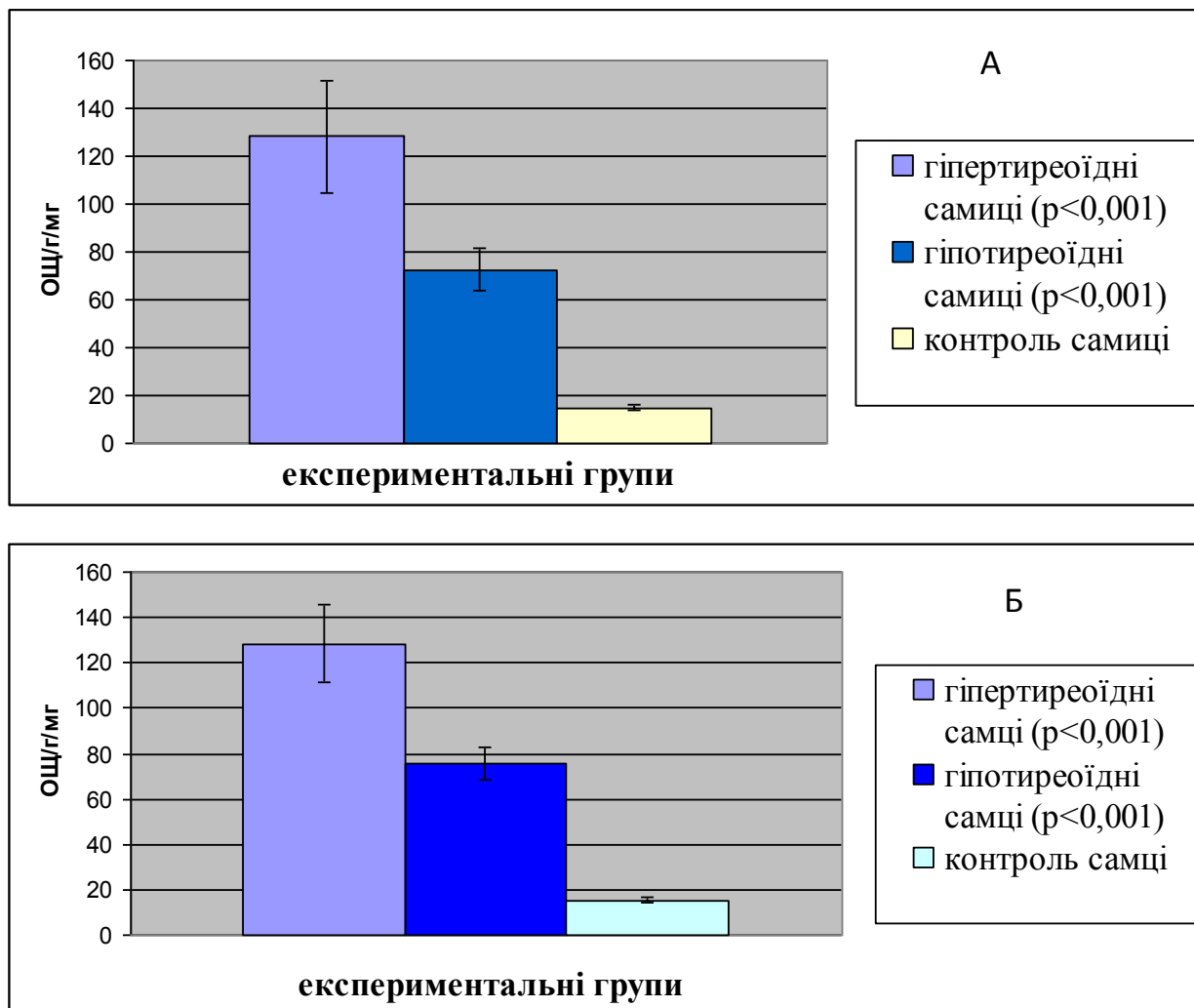


Рис. 3.1. Активність ДНК-метилтрансферази в експериментальних групах самиць (А) і самців (Б) порівняно з контролем

Отже, ферментативна активність DNMT підвищувалась як при гіпертиреоїдному стані, так і при гіпотиреозі. Значущої різниці між активністю ферменту залежно від статі між експериментальними групами не виявлено. Результати досліджень активності DNMT при модельованих станах гіпертиреозу та гіпотиреозу опубліковані у роботах [97–99].

3.2 Зміна маси тіла щурів при гіпертиреозі та гіпотиреозі

У групах гіпертиреозу та гіпотиреозу відбувається зміни маси тіла щурів у ході експерименту. При моделюванні гіпертиреозу самцям щурів протягом 2 тиж маса їх тіла зросла на 8,1 % порівняно з початковою масою. Приріст маси тіла у гіпотиреодних самців – 11,8 %. У контрольній групі самців зареєстроване збільшення маси на 8,7 %. Маса тіла самиць, що отримували Т4 протягом 14 діб, зросла на 8,1 %. Гіпотиреодні самиці за 2 тиж збільшили масу тіла на 10,3 % порівняно з початковою масою. Маса тіла самиць контрольної групи збільшилася на 8,9 %. Результати наведені у табл. 3.4 та на рис. 3.2.

Таблиця 3.4

Динаміка маси тіла у щурів експериментальних груп (г)

Експериментальна група	Доба експерименту				
	1	4	8	11	14
Т♂, n=41	190,7±10,3	193,7±12,8	197,5±8,6	200,7±12,2	206,2±10,0
М♂, n=44	197,5±17,4	202,1±15,2	210,0±18,8	216,4±18,3	221,0±13,1
К♂, n=30	200,5±13,3	204,4±12,8	208,7±10,5	213,8±10,0	218,0±15,5
Т♀, n=41	195,2±16,5	198,3±12,7	202,5±10,6	206,8±14,2	211,2±19,8
М♀, n=45	198,9±19,8	202,9±12,5	209,8±11,2	215,8±12,4	221,0±12,9
К1♀, n=31	198,8±15,2	203,5±15,0	208,4±10,5	212,4±14,3	216,5±17,9

Примітки:

1. * – вірогідна різниця між експериментальною групою та контролем ($p < 0,001$);
2. # – вірогідна різниця між експериментальною групою та контролем ($p < 0,05$);
3. Т♂ – гіпертиреодні самці
4. М♂ – гіпотиреодні самці
5. К♂ – контрольна група самців

6. Т ♀ – гіпертиреοїдні самиці
7. М ♀ – гіпотиреοїдні самиці
8. К ♀ – контрольна група самиць

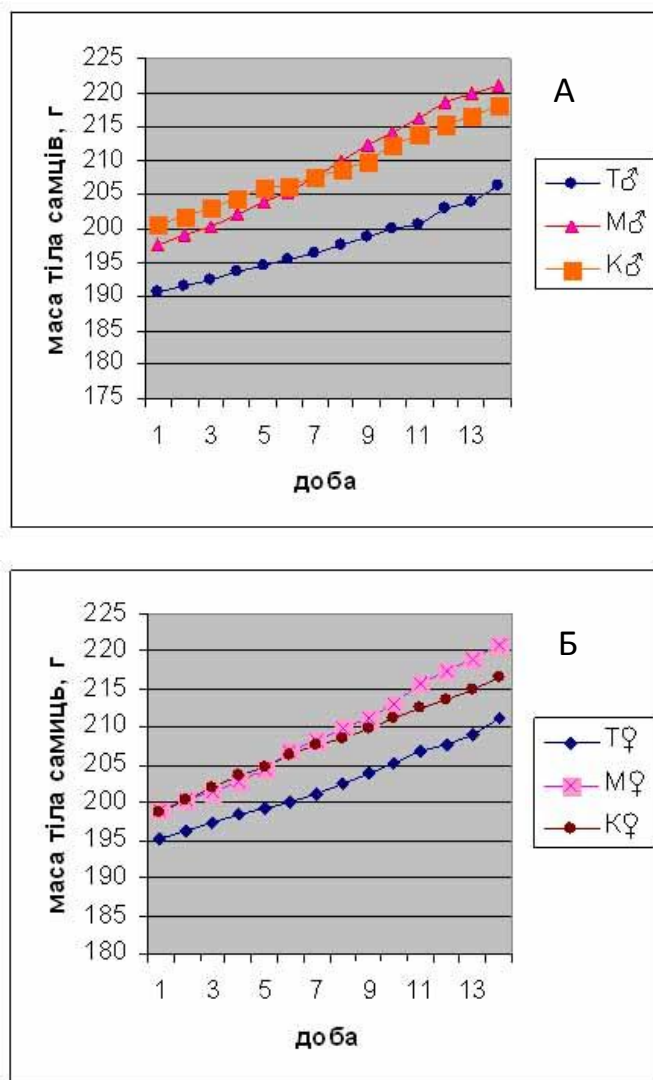


Рис. 3.2. Зміна маси тіла самців (А) і самиць (Б) в експериментальних групах порівняно з контролем

Отже, зважування лабораторних тварин протягом усього експерименту дало змогу побачити динаміку приросту маси тіла та порівняти цю ознаку залежно від модельованого патологічного стану та за статтю. Протягом 2 тиж прийому Т4 гіпертиреοїдні самці та самиці набирали масу у меншому ступені, ніж тварини контрольної групи. Значущих статевих відмінностей у групі

гіпертиреозу не було знайдено. Показники приросту маси тіла гіпотиреоїдної групи переважають значення контрольної групи. Також слід зазначити, що гіпотиреоїдні самці набували більшої маси, ніж самиці з гіпертиреозом.

3.3 Зміна маси внутрішніх органів щурів за умов гіпертиреозу та гіпотиреозу

Стійкі системні зрушення рівню ТГ призвели до зміни маси органів. Отримані результати представлені у табл. 3.5 та на рис. 3.3.

Таблиця 3.5

Маса внутрішніх органів у самців і самиць при гіпер- та гіпотиреозі, г

Орган	Т ♂ n=41	Т ♀ n=41	М ♂ n=44	М ♀ n=45	К ♂ n=30	К ♀ n=31
Серце	0,66±0,01	0,72±0,07 *, **	0,47±0,04 #	0,45±0,09 #	0,64±0,06	0,62±0,06
Печінка	5,73±0,68 **	6,02±0,04 *, **	3,83±0,38 #	3,58±0,07 *	4,99±0,14	5,78±0,01
Нирка	0,75±0,07 *, **	0,68±0,06 #, **	0,33±0,03	0,32±0,03 *	0,45±0,04	0,52±0,01
Нирка	0,74±0,07 *, **	0,67±0,01 #, **	0,32±0,03	0,31±0,03 *	0,44±0,04	0,55±0,02
Матка з придатками	—	1,83±0,01 *, **	—	0,84±0,05 *	—	1,57±0,06
Сім'яник	0,95±0,09	—	0,75±0,03 *	—	1,08±0,01	—
Сім'яник	0,95±0,09	—	0,79±0,04 *	—	1,09±0,01	—

Примітки:

1. * – вірогідна різниця між експериментальною групою та контролем ($p < 0,001$);
2. # – вірогідна різниця між експериментальною групою та контролем ($p < 0,05$);
3. ** – вірогідна різниця між обома експериментальними групами ($p < 0,001$);
4. T ♂ – гіпертиреоїдні самці;
5. M ♂ – гіпотиреоїдні самці;
6. K ♂ – контрольна група самців;
7. T ♀ – гіпертиреоїдні самиці;
8. M ♀ – гіпотиреоїдні самиці;
9. K ♀ – контрольна група самиць.

Так, маса серця гіпертиреоїдних щурів була вищою за контрольні значення: на 16 % у самиць, на 3 % у самців. У свою чергу, маса серця щурів з гіпотиреозом зменшувалась у порівнянні з контролем: на 27 % у самців і самиць. Маса печінки збільшувалася під впливом гіпертиреозу (на 14,8 % у самців і на 4 % у самиць) та знижувалась при гіпотиреозі (на 23,3 % у самців та на 38,1 % у самиць) порівняно з контролем. Маса нирок збільшувалася при гіпертиреозі (на 66,6 % у самців і на 30,7 % у самиць) та зменшувалася при гіпотиреозі (на 26,7 % у самців і на 38,5 % у самиць) у порівнянні з контролем. Маса матки у самиць збільшувалася на 16,5 % при гіпертиреоїдному стані та зменшувалася при гіпотиреоїдному на 46,5 % у порівнянні з контрольною групою. Маса сім'яників у самців зменшувалася при гіпертиреозі на 12 % і при гіпотиреозі на 30,6 % порівняно з показниками у контролі.

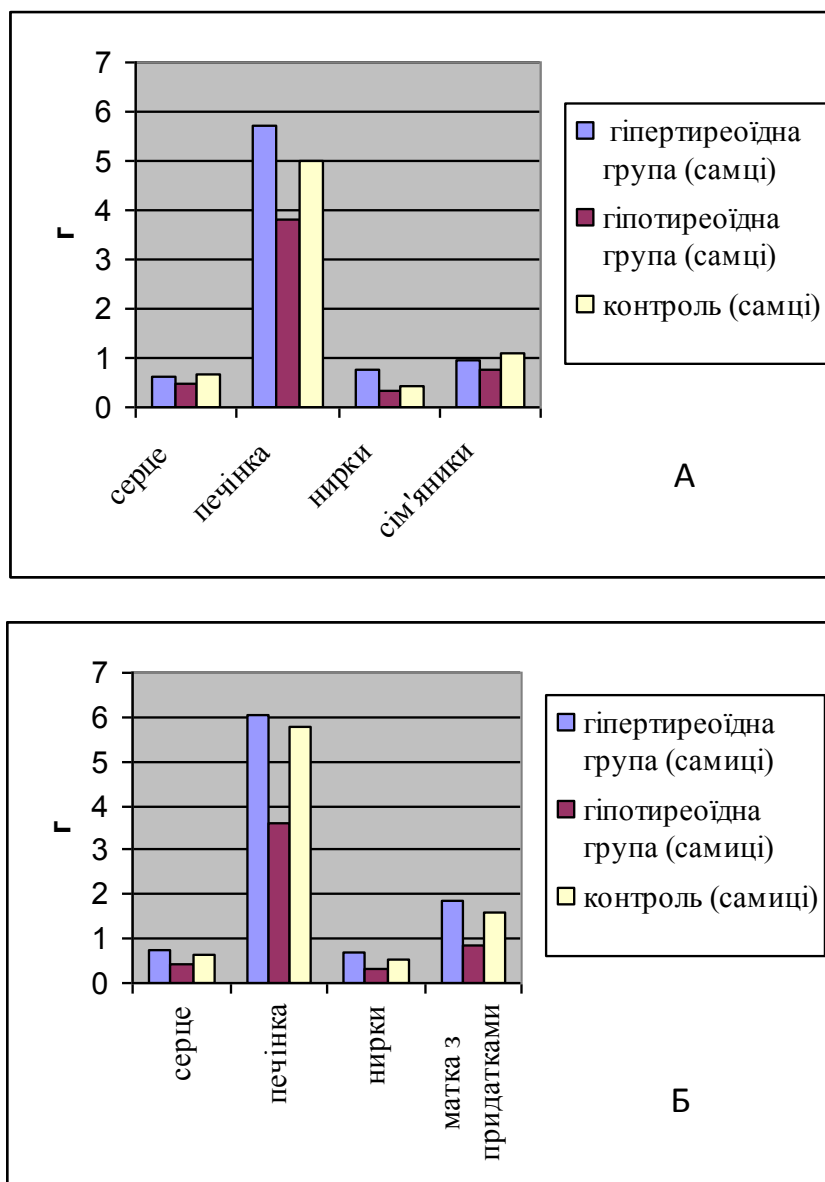


Рис. 3.3. Зміна маси органів самців (А) та самиць (Б) в експериментальних групах порівняно з контролем

Також визначали співвідношення маси органів до маси тіла щурів кожної з груп (табл. 3.6). Відмічалось збільшення абсолютної та відносної маси серця, нирок, матки гіпертиреοїдних щурів, печінки гіпертиреοїдних самиць до маси тіла порівняно з контролем. Спостерігалось зниження абсолютної та відносної маси серця, печінки, нирок, матки гіпертиреοїдної групи, а також сім'яників щурів обох груп у порівнянні з контрольною групою.

Співвідношення маси органів до маси тіла щурів

Орган	T ♂ n=41	T ♀ n=41	M ♂ n=44	M ♀ n=45	K ♂ n=30	K ♀ n=31
Серце	0,0032	0,0034	0,0021	0,002	0,0029	0,0028
Печінка	0,0277	0,0285	0,0173	0,0161	0,0288	0,0266
Нирка	0,0036	0,0032	0,0014	0,0014	0,002	0,0024
Матка з придатками	–	0,0086	–	0,0038	–	0,0072
Сім'яник	0,0046	–	0,0033	–	0,0049	–

Примітки:

1. T ♂ – гіпертиреоїдні самці;
2. M ♂ – гіпотиреоїдні самці;
3. K ♂ – контрольна група самців;
4. T ♀ – гіпертиреоїдні самиці;
5. M ♀ – гіпотиреоїдні самиці;
6. K ♀ – контрольна група самиць.

3.4 Патоморфологічне дослідження органів

Метою цієї частини експериментальної роботи було дослідження патоморфологічних змін внутрішніх органів щурів за умов моделювання гіпо- та гіпертиреозу. Патоморфологічному дослідженню підлягали життєво важливі внутрішні органи (міокард, печінка, нирки), а також статеві органи самців і самиць лабораторних тварин.

3.4.1 Міокард. У щурів контрольної групи обох статей виявлена незмінена структура міокарда. Міокардіоцити розташовані впорядковано.

Цитоплазма міокардіоцитів забарвлена еозинофільно, ядра – базофільно, кожне ядро містить незначне просвітлення в центрі. Розташування ядер у клітинах серця центральне. Судини представлені дрібними артеріями і відходять від них гілками. Забарвлення за ван Гізоном не виявило у стінках судин значущої колагенізації. Також у поодиноких випадках у щурів контрольної групи спостерігалися слабо виражений інтерстиціальний набряк і помірно венозне повнокров'я.

В умовах стану експериментального гіпертиреозу у щурів обох статей переважали такі патоморфологічні зміни гістологічної структури міокарда: помірний інтерстиціальний набряк; помірна осередкова інфільтрація інтерстицію лімфоцитами, поодинокими плазмоцитами, гістіоцитами; нерівномірне кровонаповнення кров'яного русла з помірним повнокров'ям вен та спустошенням артерій. Рідше у міокарді щурів гіпертиреоїдної групи траплялися виражене повнокров'я мікроциркулярного русла і потовщення стінок артерій та артеріол з відкладенням еозинофільних гомогенних мас у стінках, виражені більше у самиць; помірний периваскулярний набряк; нерівномірна гіпертрофія окремих робочих кардіоміоцитів. Вакуольна дистрофія поодиноких кардіоміоцитів; периваскулярне й осередкове відкладення волокон колагену й еластичних волокон в інтерстиції при забарвленні за ван Гізоном та звивистість частини волокон були виражені більше у самців. Приблизно у половини самиць гіпертиреоїдної групи виявили нерівномірне сприйняття барвників окремими кардіоміоцитами – забарвлення у рожево-фіолетовий колір з ознаками каламутного набухання цитоплазми від слабого до помірного.

Були виявлені відмінності у морфологічних змінах міокарда при гіпертиреозі залежно від статі. Тільки в поодиноких випадках у самиць з гіпертиреозом в артеріолах під базальною мембраною спостерігалось відкладення еозинофільних мас і смугастий фіброз субендотеліального шару, також було зафіксовано формування визріваючого осередку сполучної тканини з помірною лімфогістіоцитарною інфільтрацією та фібробластами і дифузна

колагенізація міокарда. Лише у гіпертиреоїдних самців було знайдено гофрованість базальної мембрани артерій та осередкове відкладення грудочок жовто-коричневого пігменту в інтерстиції міокарда.

Основними патоморфологічними змінами при гіпотиреозі у міокарді щурів стали такі ознаки: нерівномірне кровонаповнення кров'яного русла з помірним повнокров'ям вен і спустошенням артерій; дифузна гіпертрофія робочих кардіоміоцитів, більш виразна у самиць; осередкова помірна інфільтрація інтерстицію лімфоцитами, поодинокими плазмоцитами, гістіоцитами; помірний інтерстиціальний набряк і звивистість частини волокон. Ці патологічні ознаки траплялися у більшості самиць і самців з гіпотиреоїдної групи. У гіпотиреоїдних самиць частіше виявлялися дифузна виражена гіпертрофія робочих кардіоміоцитів та нерівномірне сприйняття барвників окремими кардіоміоцитами – забарвлення у рожево-фіолетовий колір з ознаками каламутного набухання цитоплазми від слабого до помірного. Дещо рідше при вивченні гістологічних зрізів міокарда щурів обох статей з групи експериментального гіпотиреозу виявлялися патоморфологічні ознаки, які частіше спостерігалися у самців: дифузна колагенізація міокарда, виражена периваскулярна колагенізація при забавленні за ван Гізеном, помірний периваскулярний набряк; вакуольна дистрофія окремих кардіоміоцитів; явища стазу, сладжу і тромбозу; осередкові крововиливи. У гіпотиреоїдних самиць частіше визначалися виражене повнокров'я мікроциркулярного русла, потовщення стінок артерій і артеріол з відкладенням еозинофільних гомогенних мас у стінках судин, осередкове відкладення грудочок жовто-коричневого пігменту в інтерстиції.

Крім того, тільки у самців з гіпотиреозом був виявлений смугастий фіброз м'язово-еластичного та субендотеліального шарів. На відміну від самців гіпотиреоїдної групи, у самиць була виявлена метахромазія центральних волокон папілярного м'яза й окремих волокон стінки шлуночка, виражена зерниста дистрофія окремих робочих кардіоміоцитів, ішемія окремих волокон аж до некрозу та гофрованість базальної мембрани артерій.

Основні патоморфологічні ознаки, виявлені у міокарді самиць і самців гіпертиреїдної та гіпотиреїдної груп, подано у табл. 3.7, на рис. 3.4 – 3.9 та опубліковано у роботах [96, 98, 99].

Таблиця 3.7

Частота виявлення основних патоморфологічних ознак у міокарді щурів експериментальних груп (кількість щурів, відсоток у порівнянні з контролем)

Патоморфологічна ознака	T♀, n=41	T♂, n=41	M♀, n=45	M♂, n=44	K♀, n=31	K♂, n=30
1	2	3	4	5	6	7
Нерівномірне кровонаповнення кров'яного русла	36 (85,3 %)	23 (56 %)	42 (93,2%)	44 (100 %)	5 (16,1%)	6 (20%)
Потовщення стінки артерії з відкладенням еозинофільних мас	11 (26,8%)	6 (14,6%)	5 (11,1%)	3 (6,8 %)	–	–
Стаз, сладж, тромбоз	–	–	13 (28,8%)	16 (36,3%)	–	–
Нерівномірне сприйняття барвників окремими кардіоміоцитами	20 (48,7%)	13 (31,7%)	24 (53,3%)	14 (31,8%)	–	–
Гіпертрофія окремих кардіоміоцитів	3 (7,3 %)	5 (12,1%)	29 (64,4%)	19 (43,1%)	–	–
Вакуольна дистрофія окремих кардіоміоцитів	1 (2,4%)	14 (34,1%)	14 (31,1%)	17 (38,6%)	–	–
Звивистість частини волокон	4 (9,75%)	26 (63,4%)	28 (62,2%)	23 (52,2%)	–	–

Таблиця 3.7 (продовження)

1	2	3	4	5	6	7
Інтерстиціальний набряк	33 (80,4 %)	41 (100 %)	42 (93,3%)	43 (97,6%)	2 (6,4 %)	1 (3,3%)
Периваскулярний набряк	9 (21,9%)	13 (31,7%)	15 (33,3%)	17 (38,6%)	–	–
Осередкова лімфогістіоцитарна інфільтрація інтерстицію	15 (36,5%)	22 (53,6%)	36 (80 %)	35 (79,5%)	–	–
Діapedезні крововиливи	6 (14,6%)	12 (29,2%)	–	–	–	–
Вогнищеві крововиливи	–	–	14 (31,1%)	17 (38,6%)	–	–
Формування визріваючого осередку сполучної тканини з лімфогістіоцитарною інфільтрацією	2 (4,87%)	–	12 (26,6%)	–	–	–
Слабка периваскулярна колагенізація, поодинокі колагенові волокна в міокарді	27 (65,8 %)	29 (70,7%)	–	–	–	–
Виражена периваскулярна колагенізація, дифузна колагенізація міокарда	2 (4,87 %)	–	30 (66,6%)	39 (88,5%)	–	–

Примітки:

1. T ♀ – гіпертиреοїдні самиці.
2. T ♂ – гіпертиреοїдні самці.
3. M ♀ – гіпотиреοїдні самиці.
4. M ♂ – гіпотиреοїдні самці.
5. K ♀ – контрольна група самиць.
6. K ♂ – контрольна група самців.

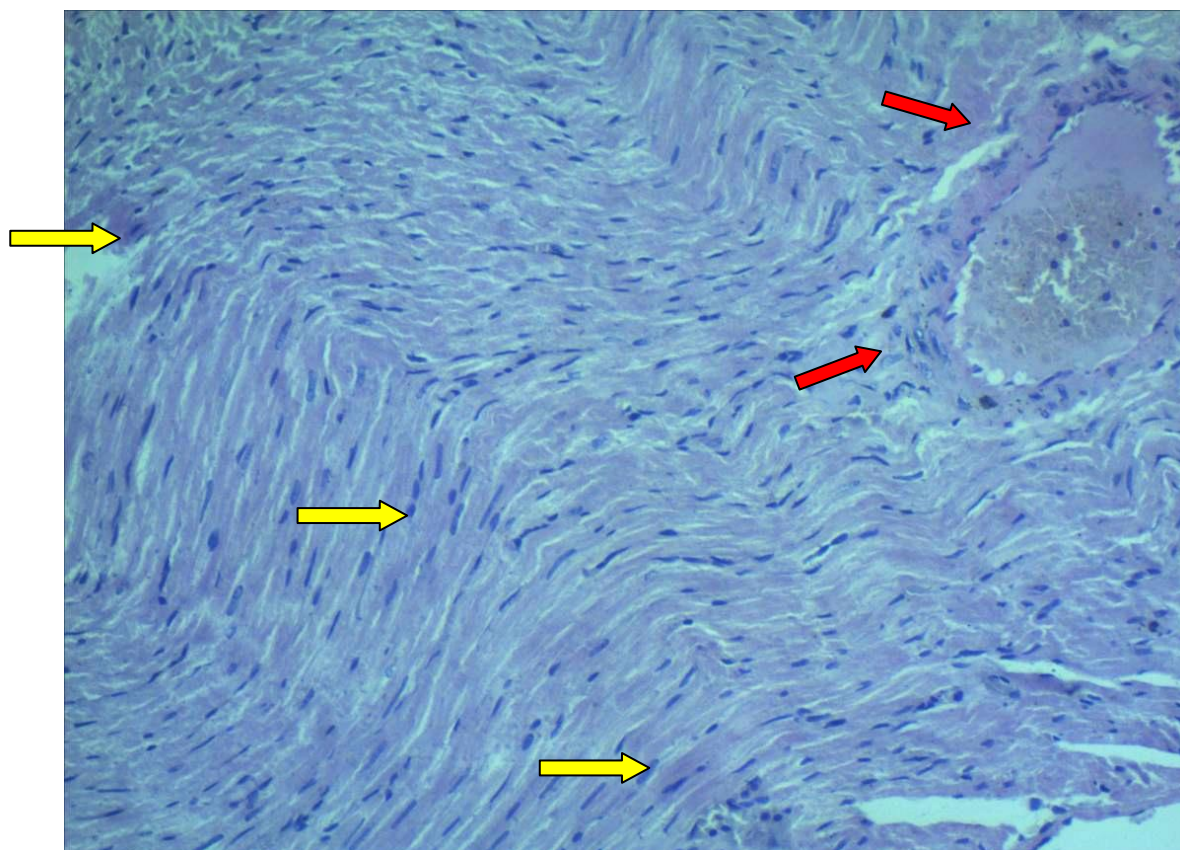


Рис. 3.4 Група гіпотиреозу. Виразне повнокров'я судин кров'яного русла. Нерівномірна гіпертрофія окремих кардіоміоцитів. Потовщення стінки артерії з відкладенням еозинофільних гомогенних мас (червона стрілка). Виразне повнокров'я мікроциркуляторного русла. Нерівномірне сприйняття барвників окремими кардіоміоцитами – забарвлення в рожево-фіолетоватий колір з ознаками каламутного набухання цитоплазми (жовта стрілка). Звивистість частини волокон. Помірний проміжний набряк. Забарвлення гематоксиліном та еозином. Зб. x100

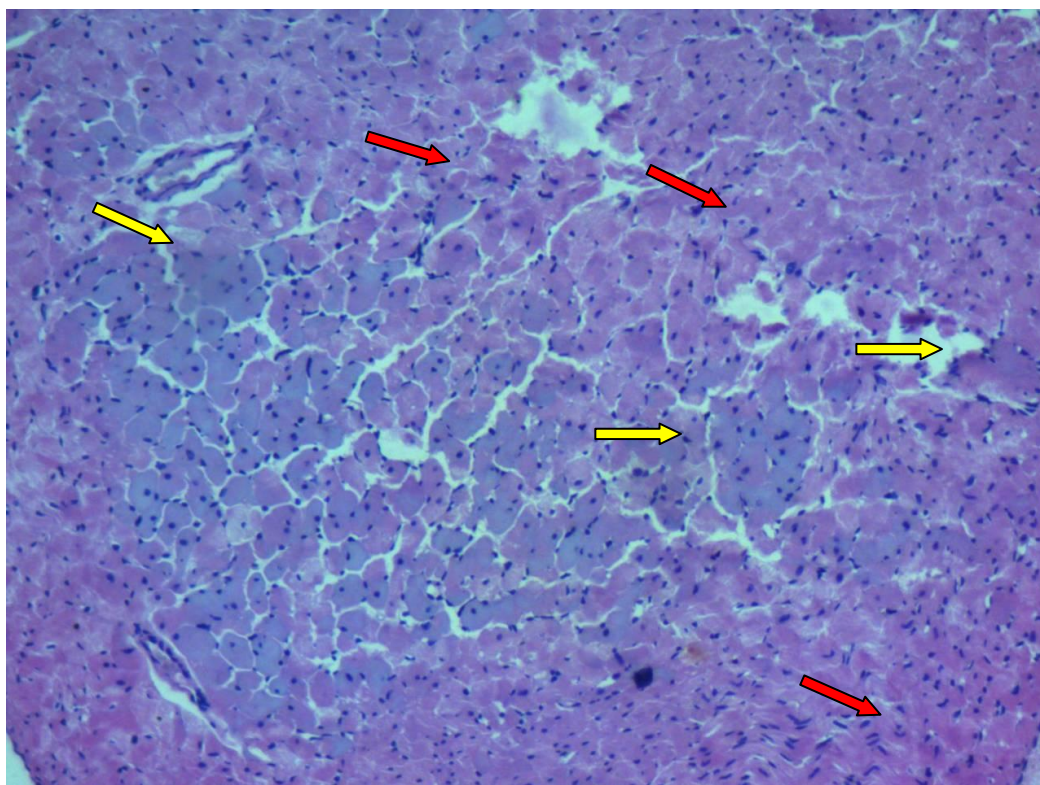


Рис. 3.5 Група гіпотиреозу. Виражене повнокров'я мікроциркуляторного русла. Нерівномірне сприйняття барвників окремими кардіоміоцитами – забарвлення в рожево-фіолетовий колір з ознаками каламутного набухання цитоплазми (червоні стрілки). Звитість частини волокон. Дифузно виражена помірна гіпертрофія кардіоміоцитів. Вакуольна дистрофія поодиноких кардіоміоцитів. Осередкова помірна інфільтрація інтерстицію лімфоцитами, поодинокими плазмоцитами, гістіоцитами. Помірний проміжний набряк. Виражена зерниста дистрофія та ішемія окремих робочих кардіоміоцитів аж до некрозу (жовті стрілки), метакромазія центральних волокон папілярного м'яза і окремих волокон стінки шлуночка. Забарвлення гематоксиліном та еозином. Зб. x200

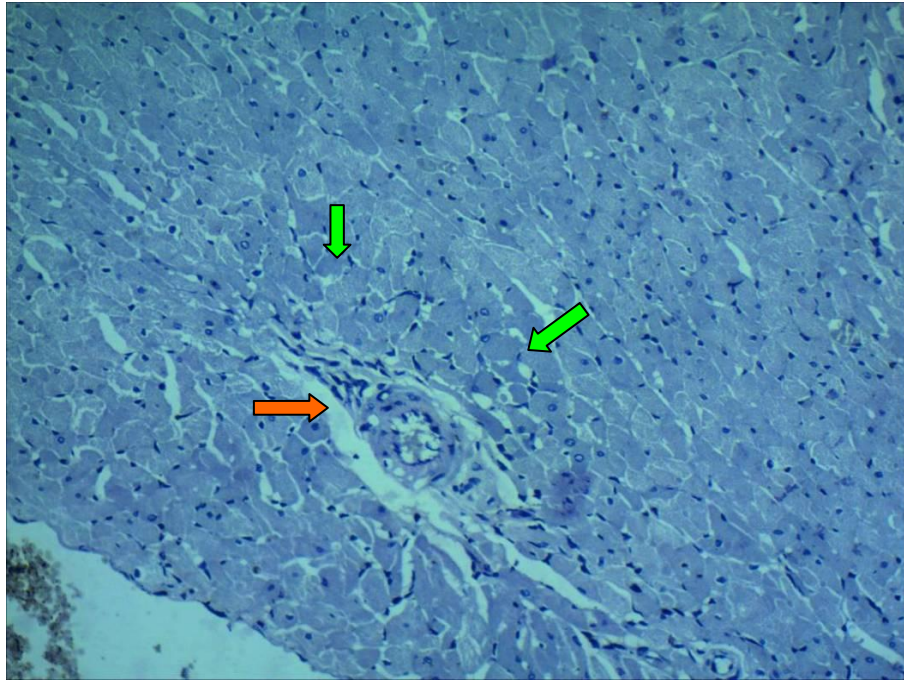


Рис. 3.6 Група гіпертиреозу. Потовщення стінки артерії, повнокров'я мікроциркуляторного русла. Осередкова помірна інфільтрація інтерстицію лімфоцитами, поодинокими плазмоцитами, гістіоцитами (помаранчева стрілка). Помірний проміжний набряк. Гіпертрофія окремих кардіоміоцитів (зелена стрілка). Забарвлення гематоксиліном та еозином. Зб. x200

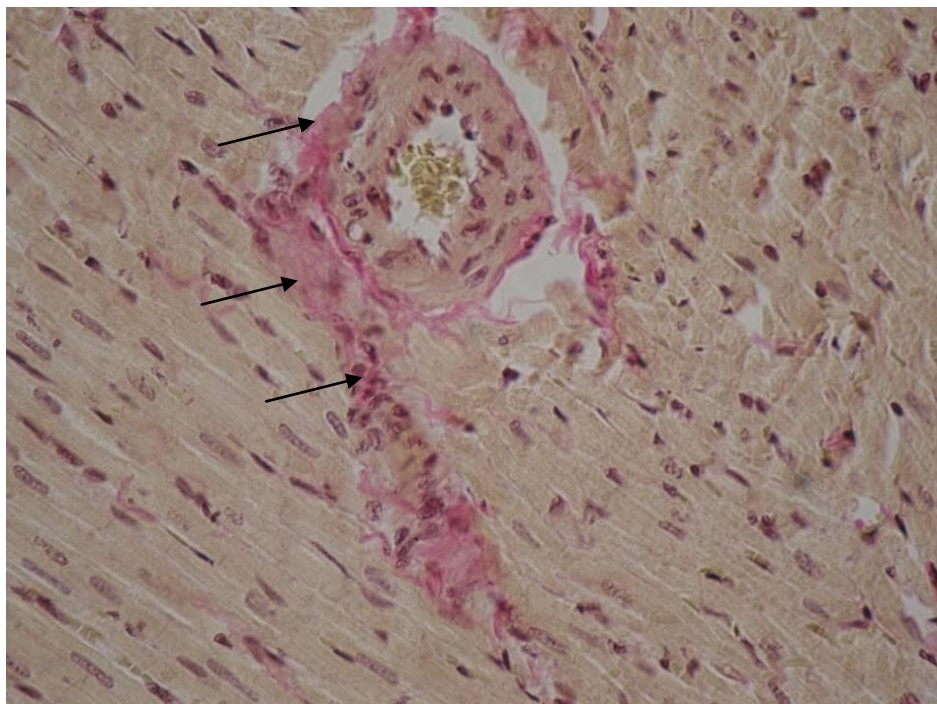


Рис. 3.7 Група гіпотиреозу. Помірний периваскулярний набряк, виражена периваскулярна колагенізація (стрілки). Забарвлення за ван Гізоном. Зб. x200

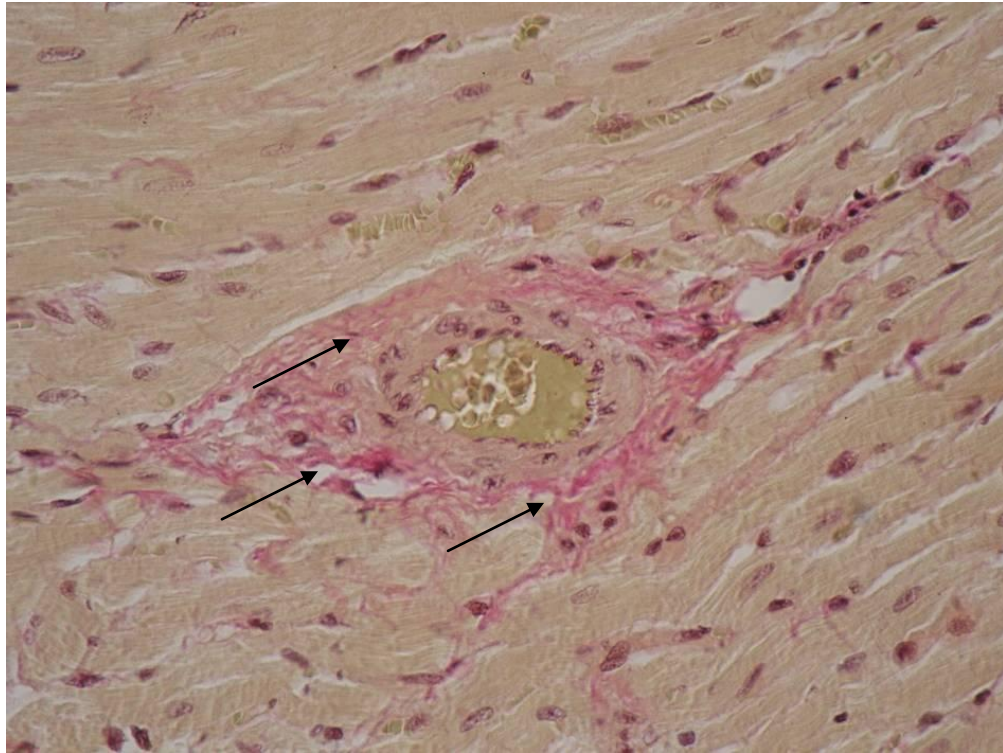


Рис. 3.8 Група гіпертиреозу. Визначається слабка периваскулярна колагенізація (стрілки). Збарвлення за ван Гізоном. Зб. х200

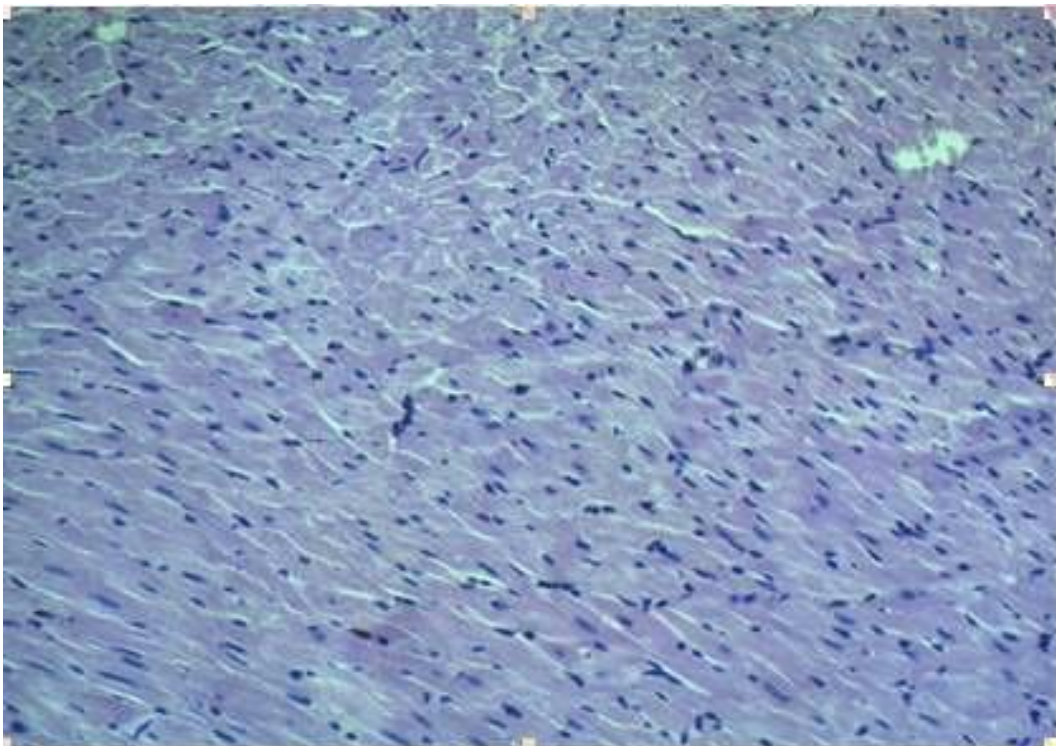


Рис. 3.9 Контрольна група. Міокардіоцити розташовані впорядковано. Цитоплазма міокардіоцитів забарвлена еозинофільно, ядра – базофільно. Розташування ядер у клітинах серця центральне. Збарвлення гематоксилином та еозином. Зб. х100

3.4.2 Печінка. При морфологічному дослідженні печінки контрольної групи тварин було визначено, що часточкова будова печінки добре простежується, часточки у вигляді неправильних багатокутників, розділені перегородками з пухкої волокнистої сполучної тканини. При великому збільшенні можна розглянути тріади, що включають міжчасточкову вену, артерію і жовчну протоку. У центрі часточки знаходяться центральні вени. Стінки центральних вен тонкі, просвіт містить кров. Від них радіально розходяться печінкові балки, що складаються з гепатоцитів. При забарвленні зрізів печінки за ван Гізоном надмірного нагромадження колагену не спостерігалось. У поодиноких щурів контрольної групи було виявлено венозне повнокров'я.

Основними патоморфологічними змінами печінки при експериментальному гіпертиреозі були нерівномірне кровонаповнення кров'яного русла з помірним повнокров'ям вен і спустошенням артерій, виражена зерниста дистрофія всіх гепатоцитів перипортально та помірний інтерстиціальний набряк. З меншою частотою у гіпертиреоїдній групі виявлялися такі ознаки: виражена зерниста дистрофія всіх гепатоцитів перипортально; осередково та дифузно у портальних трактах та в синусоїдах відкладення грудочок жовто-коричневого пігменту; ніжний фіброз у портальних трактах – дифузний, периваскулярний, перивенулярний; при забарвленні за ван Гізоном периваскулярно і осередково визначалося відкладення волокон колагену й еластичних волокон в інтерстиції; спостерігалось формування повних порто-портальних сполучнотканинних септ та порто-портальних анастомозів; виражена гіперплазія зірчастих макрофагів (клітин Купфера) як по периферії частки, так і в центральній частині; потовщення стінок артерій і артеріол з відкладенням гомогенних еозинофільних мас у стінках; краплинна жирова дистрофія гепатоцитів центральної зони; у синусоїдах дифузно велика кількість тканинних макрофагів з іржаво-коричневим пігментом у цитоплазмі. У самців з гіпертиреоїдної групи частіше визначалося виражене повнокров'я

мікроциркулярного русла; осередкова помірна інфільтрація інтерстицію центральних зон лімфоцитами, поодинокими плазмоцидами, гістіоцитами та фібробластами. Частіше у самиць з гіпертиреοїдної групи було зафіксовано розповсюджену внутрішньочасточкову лімфогістіоцитарну інфільтрацію.

Була документована різниця у змінах гістологічної структури печінки у гіпертиреοїдній групі за статтю. Тільки у деяких гіпертиреοїдних самиць було виявлено розширення синусοїдних капілярів у печінці; дифузний, периваскулярний, перивенулярний фіброз у портальних трактах; різкий фіброз з формуванням хибних часточок; гіперплазія перисинусοїдальних ліпоцитів клітин Іто; підвищення кількості дрібних клітин з темним однорідним ядром (ймовірно, ріт-клітини); у центральних зонах визначалися осередки некрозу гепатоцитів округлої форми з інфільтрацією гранулоцитами, макрофагами, гістіоцитами. У поодиноких гіпертиреοїдних самців був виявлений округлої форми одиничний фокус коагуляційного некрозу з поліморфноклітинною реакцією (гранулоцитами, поодинокими макрофагами, лімфоцитами).

Основними патоморфологічними змінами печінки при гіпотиреозі стали нерівномірне кровонаповнення кров'яного русла з помірним повнокров'ям вен та спустошенням артерій; помірна лімфогістіоцитарна інфільтрація портальних трактів; виражена зерниста дистрофія частини периферичних гепатоцитів і перипортально. Ці патоморфологічні зміни траплялися майже з однаковою частотою у всіх самців і самиць гіпотиреοїдної групи. Дещо рідше у цій групі реєструвалися слабка осередкова гіперемія синусοїдів і деяких центральних вен; розширення синусοїдних капілярів; виражене повнокров'я мікроциркулярного русла; помірний інтерстиціальний набряк; крайове стояння лейкоцитів; явища стазу, сладжу еритроцитів у венах портальних трактів; наявність у синусοїдах великої кількості тканинних макрофагів з іржаво-коричневим пігментом у цитоплазмі; осередкове відкладення в портальних трактах і синусοїдах грудочок жовто-коричневого пігменту; була зафіксована велика кількість гепатоцитів у стані вираженої зернистої дистрофії; виявлена жирова краплинна дистрофія гепатоцитів центральної зони; виражена

гіперплазія зірчастих макрофагів (клітин Купфера) як по периферії часточки, так і в центральній частині; помірна колагенізація деяких центральних вен; формування неповних і повних порталних сполучнотканинних септ; наявність поодиноких колагенових фібрил у синусоїдах.

Крім того, тільки у поодиноких випадках у самців гіпотиреоїдної групи було виявлено потовщення стінки артерій та артеріол з відкладенням еозинофільних гомогенних мас у стінках, потовщення стінки центральної вени за рахунок відкладення гомогенних еозинофільних мас у вигляді тонкої смужки, ніжний фіброз у порталних трактах – дифузний, периваскулярний, перивенулярний, підвищення кількості дрібних клітин з темним однорідним ядром (ймовірно, ріт-клітини). Розповсюджена лімфогістіоцитарна інфільтрація усередині часточок, балонна дистрофія гепатоцитів центральної зони та гіперплазія перисинусоїдальних ліпоцитів клітин Іто були виявлені у гіпотиреоїдній групі тільки у самиць.

Основні патоморфологічні ознаки, виявлені у самиць та самців гіпертиреоїдної та гіпотиреоїдної груп, наводяться у табл. 3.8, на рис. 3.10–3.17 та опубліковані у роботах [97, 100].

Таблиця 3.8

Частота виявлення основних патоморфологічних ознак у печінці щурів експериментальних груп (кількість щурів, відсоток у порівнянні з контролем)

Патоморфологічна ознака	T♀, n=41	T♂, n=41	M♀, n=45	M♂, n=44	K♀, n=31	K♂, n=30
1	2	3	4	5	6	7
Виражене венозне повнокров'я	33 (82,8 %)	39 (95,1%)	45 (100%)	41 (93,1%)	6 (19,3%)	8 (26,6%)
Лімфогістіоцитарна інфільтрація порталних трактів	31 (75,5 %)	41 (100 %)	32 (71 %)	31 (70,3 %)	–	–

Таблиця 3.8 (продовження)

1	2	3	4	5	6	7
Жовто-коричневий пігмент у синусоїдах	19 (46,2 %)	13 (31,6 %)	12 (26,6 %)	3 (6,8 %)	–	–
Зерниста дистрофія частини гепатоцитів	34 (82,8 %)	21 (51,2 %)	45 (100 %)	44 (100 %)	–	–
Краплинна жирова дистрофія гепатоцитів	8 (19,5 %)	7 (17 %)	13 (28,8 %)	6 (13,6 %)	–	–
Інтерстиціальний набряк	21 (51,2 %)	15 (36,5 %)	6 (13,3 %)	7 (15,9 %)	–	–
Гіперплазія макрофагів	5 (12,1 %)	11 (26,8 %)	15 (33,3 %)	9 (20,4 %)	–	–
Периваскулярний фіброз	19 (46,2 %)	12 (29,2 %)	5 (11,1 %)	7 (15,8 %)	–	–
Колагенові та еластичні волокна в інтерстиції	17 (41,4 %)	7 (17 %)	–	2 (4,5 %)	–	–
Неповні порто-портальні сполучнотканинні септи	–	–	6 (13,3 %)	8 (18,1 %)	–	–
Повні порто-портальні сполучнотканинні анастомози	9 (21,8 %)	10 (24,3 %)	4 (8,8 %)	7 (15,9 %)	–	–

Примітки:

1. Т ♂ – гіпертиреодні самці.

2. М ♂ – гіпотиреоїдні самці.
3. К ♂ – контрольна група самців.
4. Т ♀ – гіпертиреоїдні самиці.
5. М ♀ – гіпотиреоїдні самиці.
6. К ♀ – контрольна група самиць.

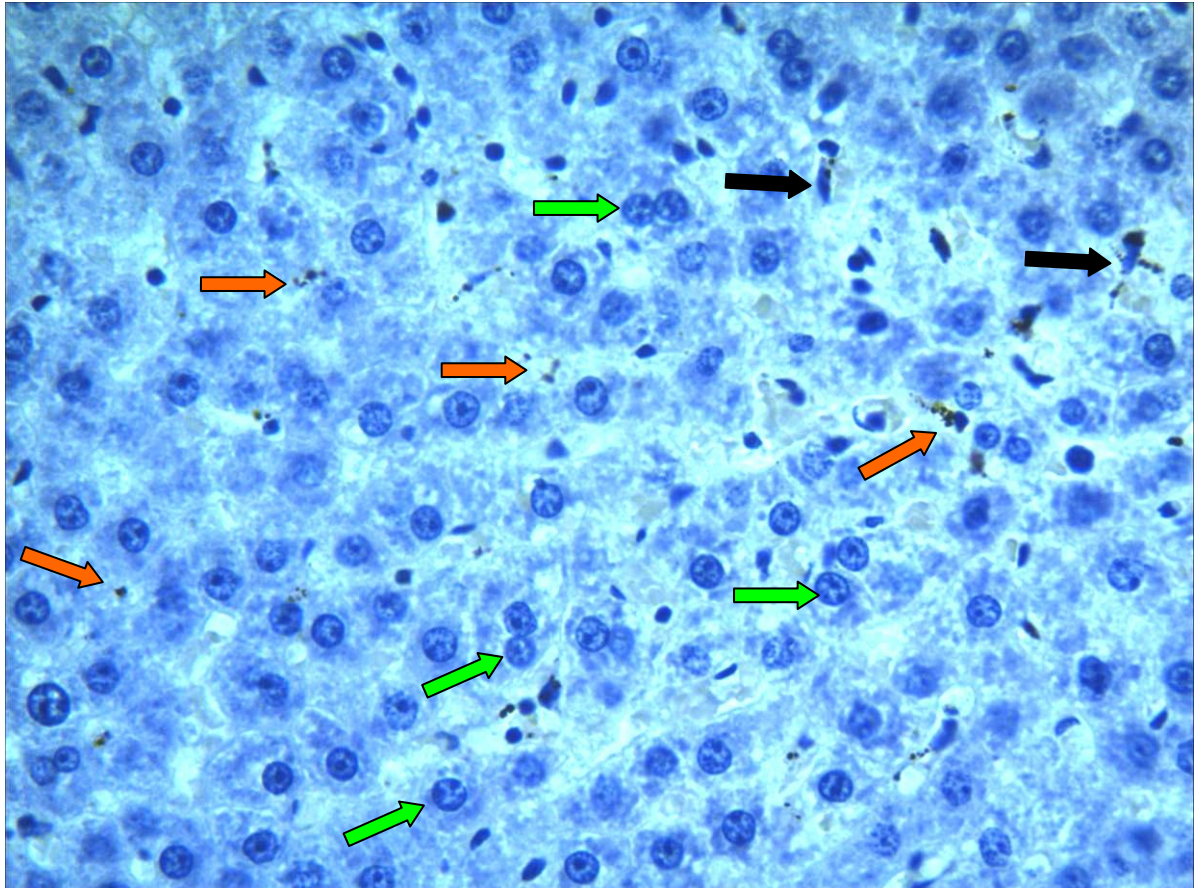


Рис. 3.10 Гіпертиреоїдна група. Осередкове відкладення грудочок жовто-коричневого пігменту в синусоїдах (помаранчеві стрілки). Помірний проміжний набряк. Виразна зерниста дистрофія частини периферичних гепатоцитів (зелені стрілки), крапельна жирова дистрофія гепатоцитів центральної зони. Виражена гіперплазія зірчастих макрофагів (клітин Купфера) як по периферії часточки, так і в центральній частині. У синусоїдах дифузно велика кількість тканинних макрофагів з іржаво-коричневим пігментом в цитоплазмі (чорні стрілки). Забарвлення гематоксиліном та еозином. Зб. x200

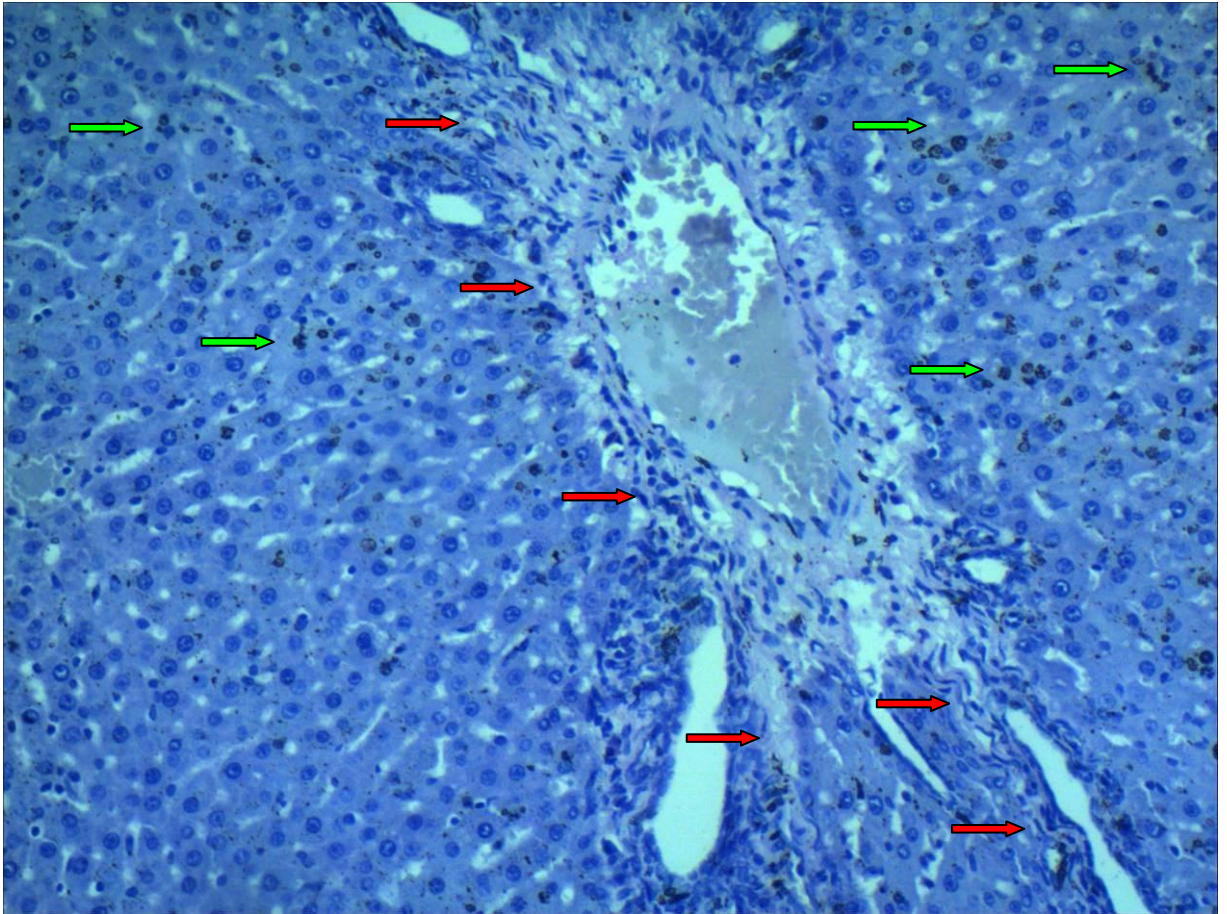


Рис. 3.11 Гіпертиреοїдна група. Помірне венозне повнокров'я. Розширення синусοїдних капілярів. Осередкове відкладення грудочок жовто-коричневого пігменту у синусοїдах (зелені стрілки). Помірна лімфогістіοцитарна інфільтрація портальних трактів. Ніжний фіброз в окремих портальних трактах – дифузний, периваскулярний, перивенулярний (червоні стрілки). У синусοїдах дифузно невелика кількість тканинних макрофагів з іржаво-коричневим пігментом у цитоплазмі. Забарвлення гематоксиліном та еозином. Зб. х200

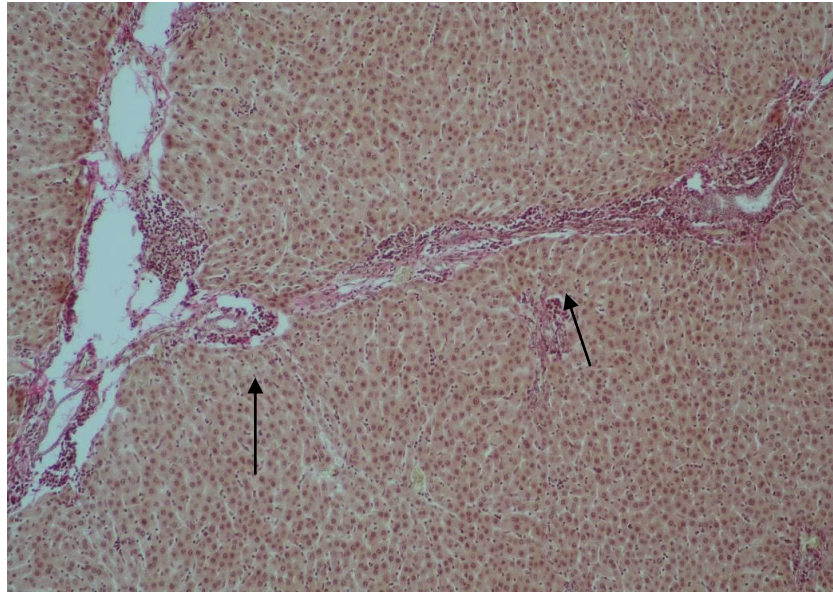


Рис. 3.12 Гіпертиреοїдна група. Осередкова помірна гіперемія центральних вен. Реєструється формування значних порто-портальних септ і судинних порто-портальних анастомозів (стрілки). Забарвлення за ван Гізоном. Зб. x100

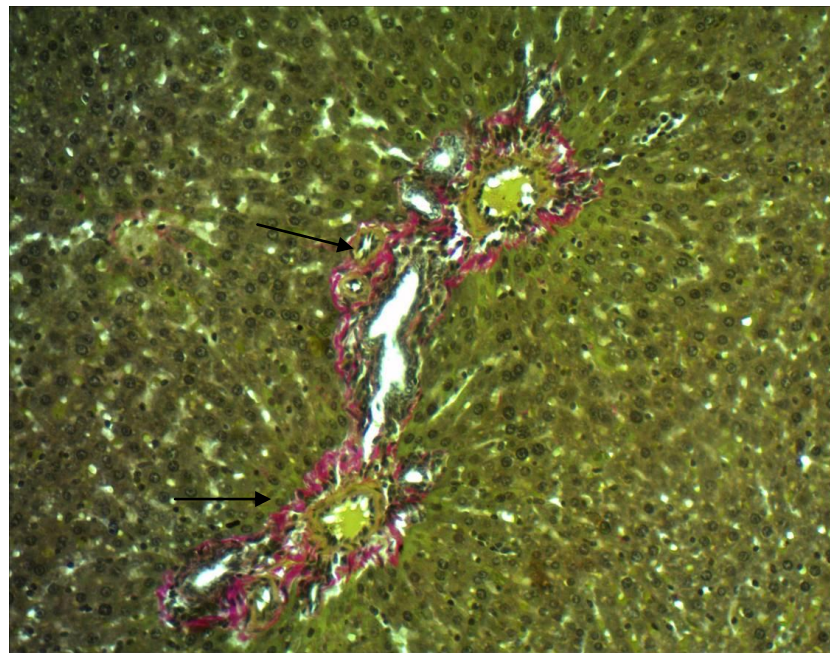


Рис. 3.13 Гіпертиреοїдна група. Виразене венозне повнокров'я. Розповсюджена внутрішньочасточкова лімфогістіоцитарна інфільтрація. Помірний проміжний набряк. Виразена зерниста дистрофія всіх гепатоцитів. Периваскулярно й осередково в інтерстиції відкладення волокон колагену. Реєструється формування значних порто-портальних септ і судинних порто-портальних анастомозів (стрілки). Забарвлення за ван Гізоном. Зб. x100

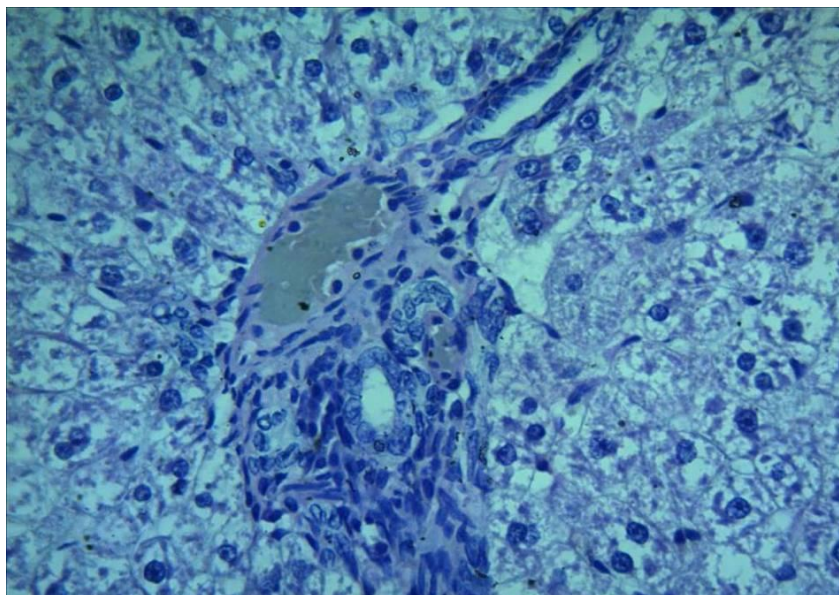


Рис. 3.14 Гіпотиреоїдна група. Нерівномірне кровонаповнення кров'яного русла. Розширення капілярів. Потовщення стінки центральної вени за рахунок відкладення смугастих гомогенних еозинофільних мас. Помірна лімфогістіоцитарна інфільтрація портальних трактів. Виражена зерниста дистрофія всіх гепатоцитів. Забарвлення гематоксиліном та еозином. Зб. x100

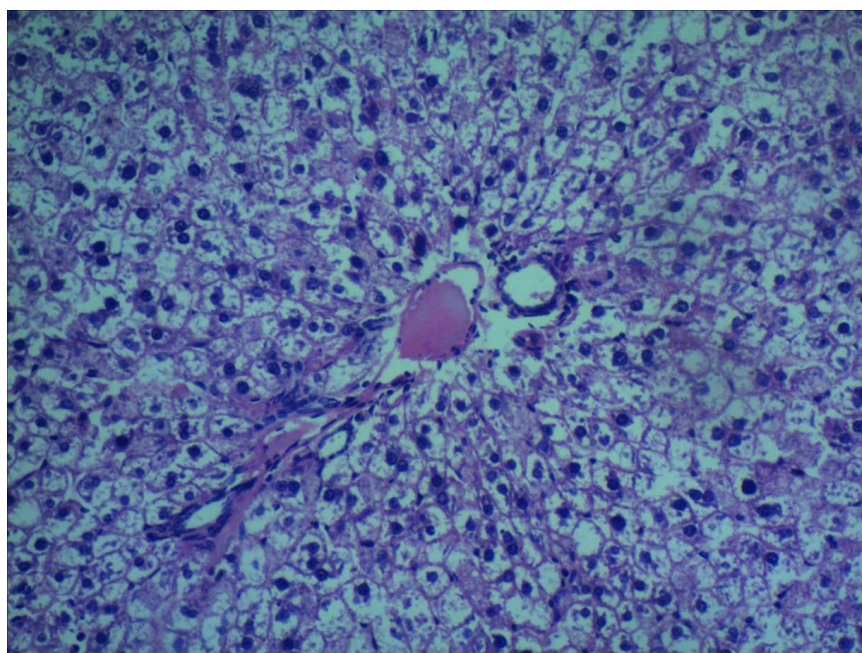


Рис. 3.15 Гіпотиреоїдна група. Нерівномірне кровонаповнення кров'яного русла, повнокров'я вен. Виражена зерниста дистрофія всіх гепатоцитів, балонна дистрофія гепатоцитів центральної зони. Виражена гіперплазія зірчастих макрофагів. Забарвлення гематоксиліном та еозином. Зб. x100

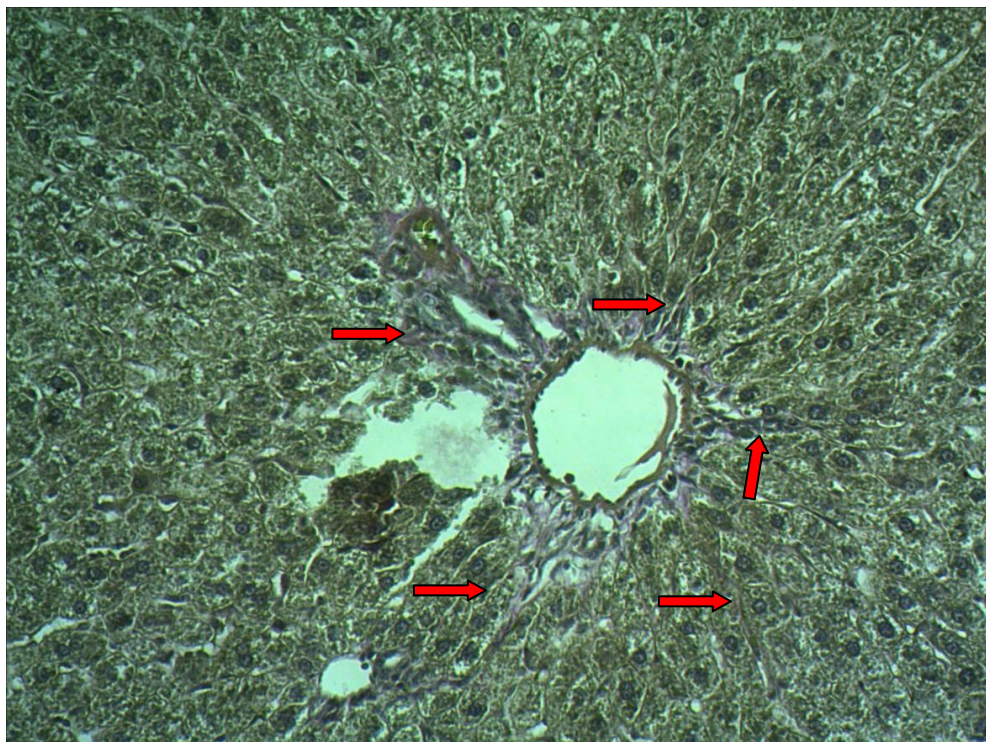


Рис. 3.16 Гіпотиреоїдна група. Периваскулярно й осередково в інтерстиції відкладення волокон колагену й еластичних волокон (червоні стрілки). Виражена зерниста дистрофія усіх гепатоцитів. Збільшення кількості дрібних клітин з темним однорідним ядром (ймовірно, ріт-клітини). Зabarвлення за ван Гізоном. Зб. x100

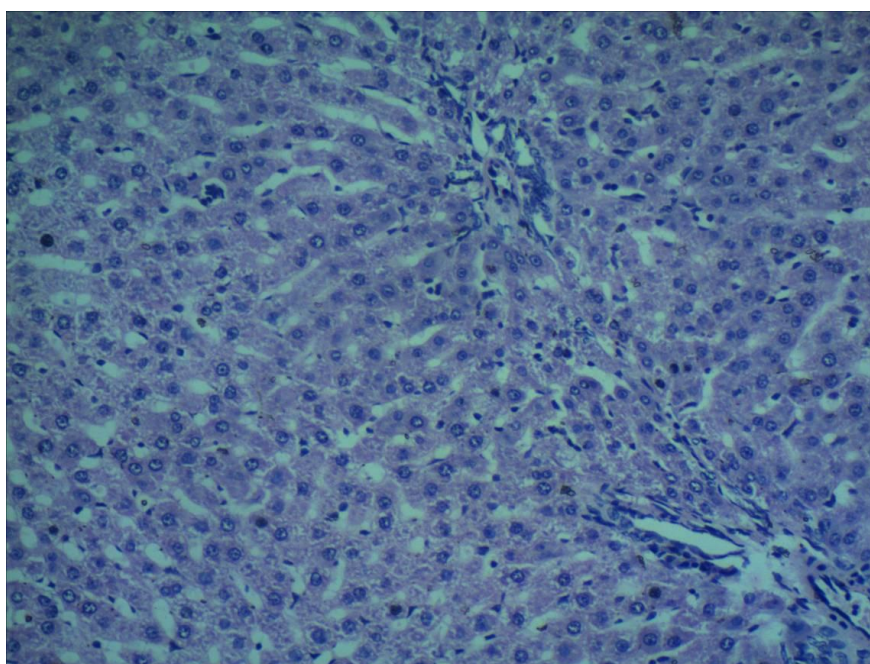


Рис. 3.17 Контроль. Зabarвлення гематоксиліном та еозином. Зб. x100

3.4.3. Нирки. При гістологічному дослідженні мікропрепаратів нирок контрольної групи було визначено, що ниркові клубочки звичайної гістологічної будови, вони сформовані капсулою і судинним клубочком. Судинний клубочок являє собою сітку тонких капілярів з незначною кількістю стромальних клітин (мезангіоцитів) між ними. Просвіт капсули тонкий, нагадує півмісяць. Епітелій ниркових каналців високий призматичний у проксимальних відділах. У тонких каналцях епітелій сплющений. Просвіт каналців вільний, іноді в ньому виявлялися еозинофільні фрагменти. При забарвленні зрізів нирок за ван Гізоном надмірного нагромадження колагену не спостерігалось. У деяких щурів було виявлено повнокров'я судинного русла.

У щурів обох статей гіпертиреоїдної групи переважали такі ознаки: виражене повнокров'я венозного русла та помірне кровонаповнення артерій; просвіт деяких каналців містив еозинофільний гомогенний безклітинний матеріал; в апікальному кінці епітелію звивистих каналців спостерігалось відкладення дрібнозернистих гомогенних еозинофільних білкових мас; було виявлено нерівномірне потовщення стінок артерій та артеріол за рахунок гіперплазії гладком'язових клітин. З дещо меншою частотою у гіпертиреоїдній групі виявлялися такі патоморфологічні зміни: у мозковому шарі в інтерстиції спостерігалось відкладення гомогенних еозинофільних білкових мас у вигляді смуг; помірна осередкова лімфогістіоцитарна інфільтрація строми кіркового шару, дифузно поодинокі лімфоцити в інтерстиції; при забарвленні за ван Гізоном було виявлено периваскулярний ніжний фіброз з відкладенням тонких волокон колагену; потовщення стінок приносних артеріол за рахунок гіперплазії юкстагломерулярних клітин; дрібні осередкові крововиливи; капілярні петлі клубочків були гіперемованими; спазм артеріол, пристінковий венозний тромбоз, стаз і садж еритроцитів у венозному руслі; жовто-коричневий пігмент у вигляді гранул і грудочок у цитоплазмі окремих клітин звивистих каналців; епітелій проксимальних і дистальних каналців з ознаками виразної дистрофії та некрозу; частина епітеліоцитів десквамована у просвіт каналців; просвіт капсули частини клубочків не виявлявся; у просвіті

канальців наявний гіаліноподібний матеріал.

Тільки у препаратах нирок гіпертиреоїдних самиць було знайдено гофрованість еластичної мембрани артерій та артеріол, нерівномірний спазм артеріол в інтерстиції з формуванням ендотелію за типом частоколу, при забарвленні за ван Гізеном – відкладення волокон колагену в підслизовому шарі лоханки у вигляді смуг, а також колагенових та еластичних волокон периваскулярно, колагену в підслизовому шарі сечовивідних шляхів, склероз та звивисті нерівномірної товщини еластичні волокна у стінках артерій, артеріол та периваскулярно у кірковому шарі, у стінках окремих артеріол було відмічено відкладення еозинофільних білкових мас. Тільки у самців гіпертиреоїдної групи були виявлені помірна інфільтрація у слизовому шарі лоханки лімфоцитами, гістіоцитами, поодинокими гранулоцитами, помірна осередкова лімфоїдна інфільтрація підслизового шару сечовивідних шляхів, розширення просвіту капсули клубочка.

Переважаючими патоморфологічними змінами у нирках лабораторних тварин з експериментальним гіпотиреозом були виражене повнокров'я венозного русла та помірне кровонаповнення артерій, в апікальному кінці епітелію звивистих канальців визначалося відкладення дрібнозернистих гомогенних еозинофільних білкових мас, просвіт деяких канальців містив еозинофільний матеріал. Ці ознаки траплялися з майже однаковою частотою у самиць і самців гіпотиреоїдної групи. Дещо рідше виявлялися такі ознаки: епітелій проксимальних, прямих і дистальних канальців з проявами виразної дистрофії та некрозу; в просвіті канальців виявлявся гіаліноподібний матеріал; жовто-коричневий пігмент у вигляді гранул і грудочок спостерігався у цитоплазмі окремих клітин епітелію звивистих канальців; гіпереровані капілярні петлі клубочків; дрібні осередкові крововиливи; артерії, які знаходилися у стані спазму з ознаками виразного периваскулярного набряку; гофрованість еластичної мембрани артерій та артеріол; нерівномірне потовщення еластичної мембрани артеріол в інтерстиції; нерівномірний спазм артеріол в інтерстиції з формуванням ендотелію за типом частоколу;

нерівномірне потовщення стінок артерій та артеріол за рахунок гіперплазії гладком'язових клітин; потовщення стінок приносних артеріол за рахунок гіперплазії юстагломерулярних клітин; стаз і складж еритроцитів у венозному руслі; епітелій проксимальних та прямих каналців був набряклим; частина епітеліоцитів була десквамована у просвіт каналців; поодинокі епітеліоцити були некротизованими; просвіт капсули клубочків був розширеним; у деяких щурів просвіт частини клубочків не виявлявся; в окремих клубочках просвіт капсули містив фібрилярний матеріал.

Тільки у поодиноких самців гіпотиреоїдної групи були виявлені такі ознаки: помірна інфільтрація слизового шару лоханки лімфоцитами, гістіоцитами, нечисленними гранулоцитами; осередкова інфільтрація лімфоцитами кіркового шару; фокус інфільтрації інтерстицію лімфоцитами, поодинокими гістіоцитами у кірковому шарі; склероз та звивиті тонкі, нерівномірної товщини еластичні волокна у стінках артерій, артеріол і периваскулярно у кірковому шарі. У свою чергу, тільки у гіпотиреоїдних самиць були виявлені помірна гніздова лімфогістіоцитарна інфільтрація строми кіркового шару, численні лімфоцити в інтерстиції, помірна осередкова інфільтрація підслизового шару сечовивідних шляхів з формуванням лімфоїдного фолікула у стромі кіркового шару, потовщення базальної мембрани капсули клубочків за рахунок центрального щільного шару (колаген 4-го типу).

Основні патоморфологічні ознаки, виявлені у самиць і самців гіпертиреоїдної та гіпотиреоїдної груп, представлені у табл. 3.9 та на рис. 3.18–3.23.

Таблиця 3.9

Частота виявлення основних патоморфологічних ознак у нирках щурів експериментальних груп (кількість щурів, відсоток у порівнянні з контролем)

Патоморфологічна ознака	T♀, n=41	T♂, n=41	M♀, n=45	M♂, n=44	K♀, n=31	K♂, n=30
1	2	3	4	5	6	7
Повнокров'я судинного русла	35 (85,3 %)	35 (85,3 %)	26 (59,7 %)	34 (77,1 %)	4 (12,9 %)	4 (13,3%)
Дрібні осередкові крововиливи	11 (26,8 %)	14 (34,1 %)	10 (22,2 %)	15 (34 %)	–	–
Спазм артеріол	21 (51,1%)	10 (24,3 %)	5 (11,1 %)	8 (18,1 %)	–	–
Гофрованість еластичної мембрани артерій	10 (24,3 %)	–	4 (8,8 %)	15 (34 %)	–	–
Нерівномірне потовщення стінок артерій та артеріол	39 (95 %)	34 (82,9 %)	19 (42,2 %)	5 (11,3 %)	–	–
Венозний тромбоз, стаз, сладж	12 (29,2 %)	16 (39 %)	1 (2,2 %)	2 (4,5 %)	–	–
У просвіті звивистих каналців еозинофільні білкові маси	26 (63,4 %)	15 (36,5%)	25 (55,5 %)	16 (36,3 %)	–	–
Епітелій каналців з ознаками дистрофії та некрозу	12 (29,2 %)	14 (34,1%)	17 (37,7 %)	17 (38,6 %)	–	–

Таблиця 3.9 (продовження)

1	2	3	4	5	6	7
У просвіті каналців гіаліноподібний матеріал	6 (14,6 %)	4 (9,7 %)	14 (31,1 %)	16 (36,3 %)	–	–
Просвіт каналців з еозинофільним матеріалом	36 (87,8 %)	33 (80,4 %)	27 (60 %)	26 (59 %)	–	–
Жовто-коричневий пігмент у цитоплазмі епітелію звивистих каналців	10 (24,3 %)	9 (21,9 %)	15 (33,3 %)	4 (9 %)	–	–
Помірна осередкова лімфогістіоцитарна інфільтрація строми кіркового шару	20 (48,7 %)	27 (68 %)	9 (20 %)	–	–	–
Еластичні волокна у стінках артерій, артеріол і периваскулярно	18 (43,9 %)	12 (29,2 %)	–	10 (22,7 %)	–	–

Примітки:

1. Т ♂ – гіпертиреодні самці.
2. М ♂ – гіпотиреоїдні самці.
3. К ♂ – контрольна група самців.
4. Т ♀ – гіпертиреодні самиці.
5. М ♀ – гіпотиреоїдні самиці.
6. К ♀ – контрольна група самиць.

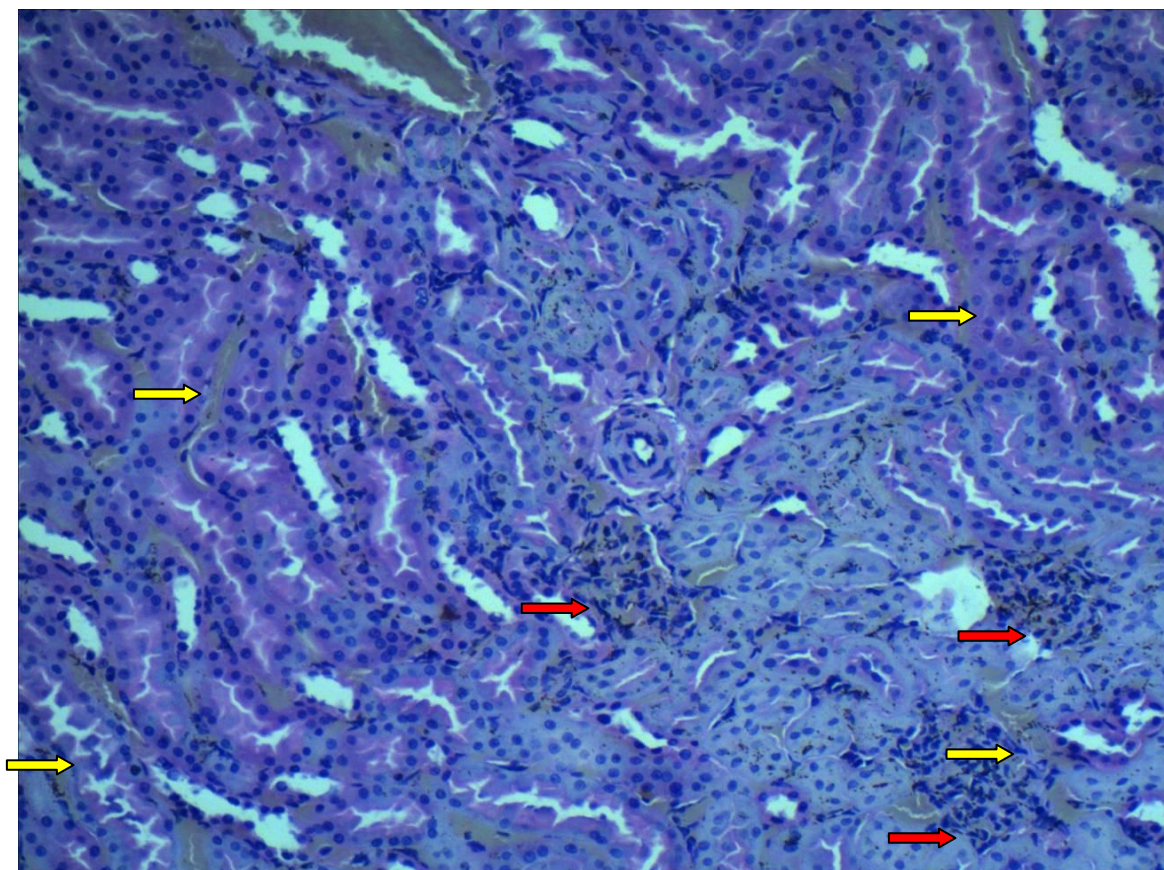


Рис. 3.18 Гіпертиреοїдна група. Повнокров'я судинного русла. В інтерстиції мозкової речовини відкладення гомогенних еозинοфільних білкових мас у вигляді смуг (жовті стрілки), в апікальному кінці епітелію звивистих каналців відкладення дрібнозернистих гомогенних еозинοфільних білкових мас, еозинοфільні білкові маси в просвіті окремих проксимальних каналців. Нерівномірне потовщення стінок артерій і артеріол за рахунок гіперплазії гладком'язових клітин. Помірна гніздова лімфогістіοцитарна інфільтрація строми (червоні стрілки). Забарвлення гематоксиліном та еозином. Зб. x200

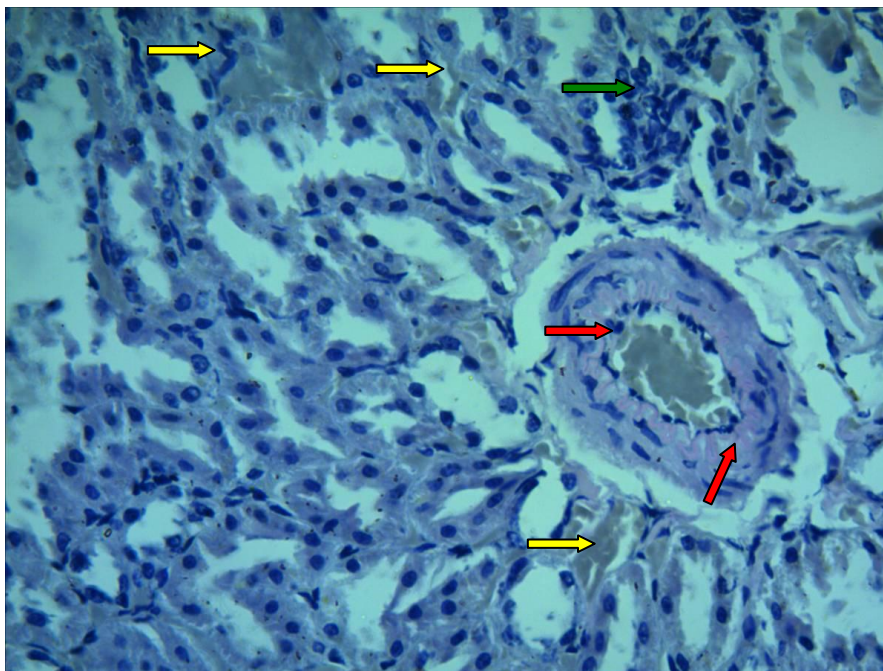


Рис. 3.19 Гіпертиреїдна група. Гофрованість еластичної мембрани, нерівномірний спазм артеріол в інтерстиції з формуванням ендотелію за типом частоколу (червоні стрілки). В апікальному кінці епітелію звивистих каналців відкладення гомогенних еозинофільних білкових мас (жовті стрілки). Гніздова лімфогістіоцитарна інфільтрація строми (зелені стрілки). Нерівномірне потовщення стінки артерії за рахунок гіперплазії гладком'язових клітин. Збарвлення гематоксиліном та еозином. Зб. x400

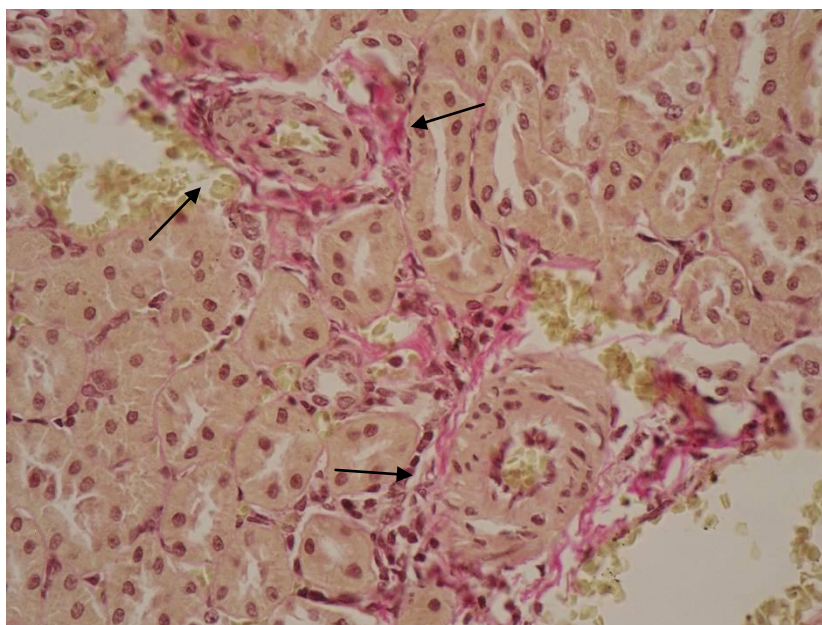


Рис. 3.20 Гіпертиреїдна група. Спазм артеріол, периваскулярна колагенізація (стрілки). Збарвлення за ван Гізоном. Зб. x200

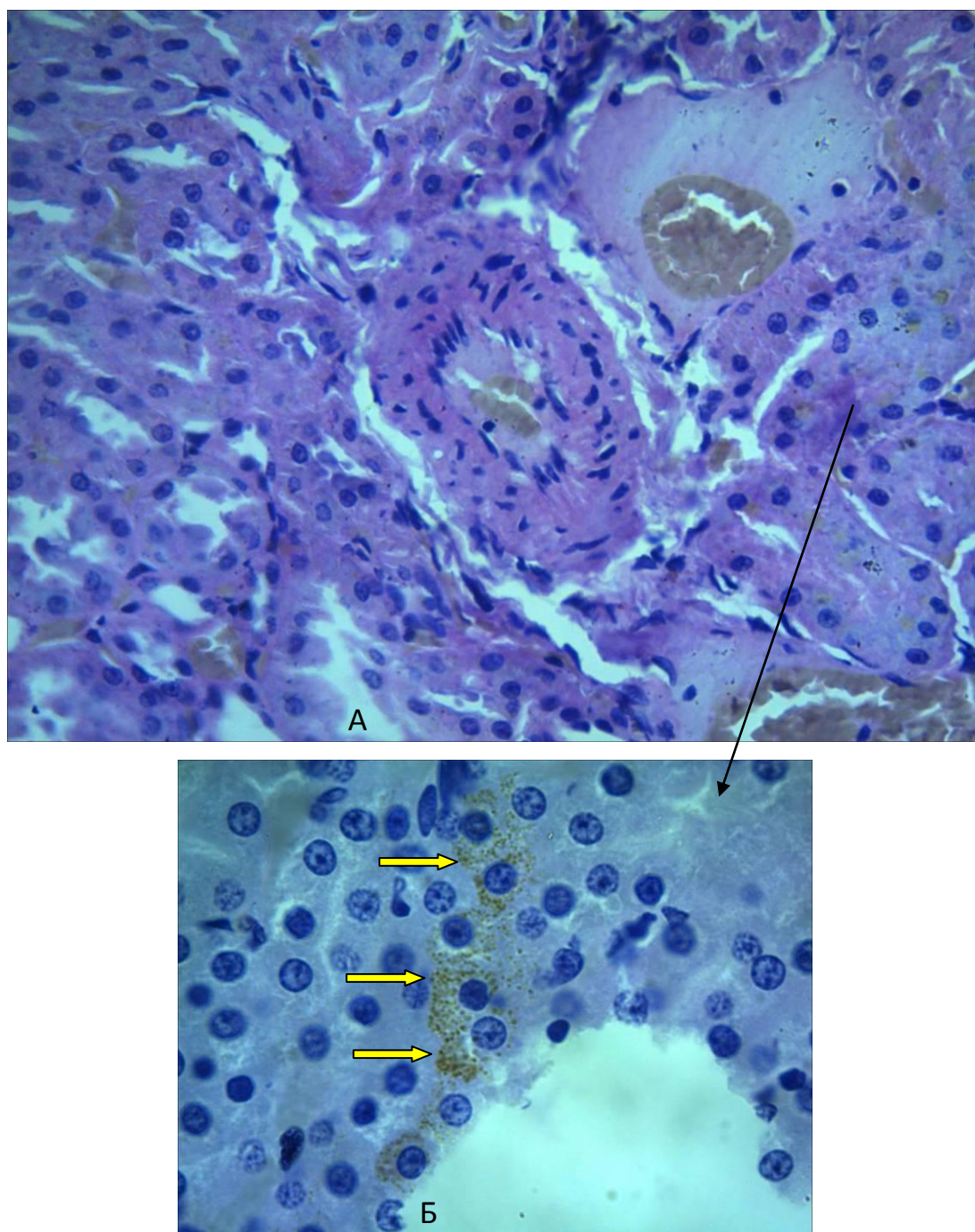


Рис. 3.21 Гіпотиреоїдна група. Нерівномірний спазм артеріол з формуванням ендотелію за типом частоколу. В апікальному кінці епітелію звивистих каналців і в просвіті окремих проксимальних каналців відкладення дрібнозернистих гомогенних еозинофільних білкових мас. Нерівномірне потовщення стінок артерій і артеріол за рахунок гіперплазії гладком'язових клітин. Жовто-коричневий пігмент у вигляді гранул і грудочок у цитоплазмі епітелію звивистих каналців (жовті стрілки). Забарвлення гематоксиліном та еозином. Зб. x200 (А), x400 (Б)

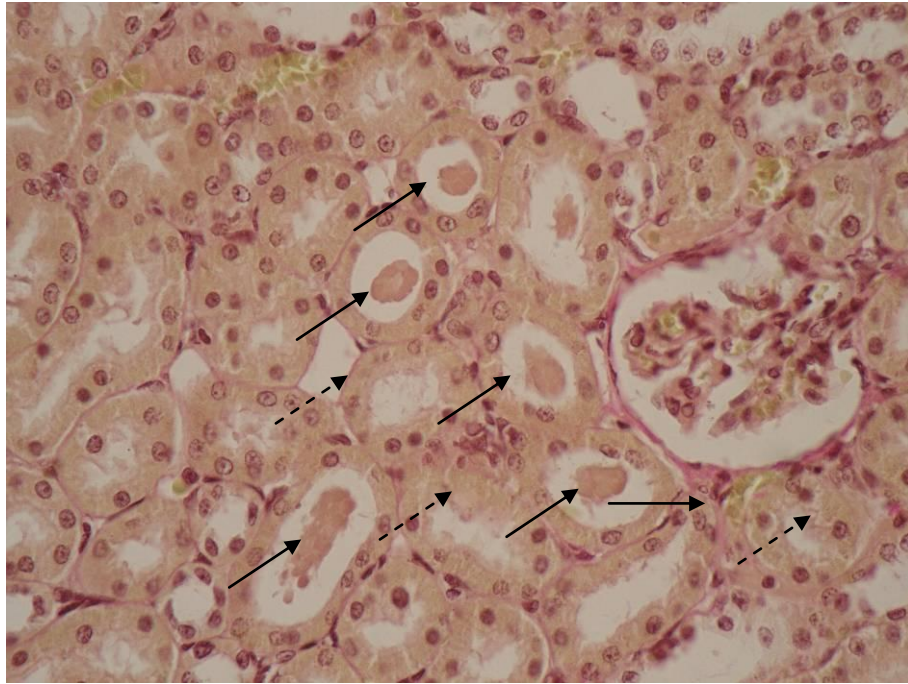


Рис. 3.22 Гіпотиреоїдна група. Епітелій проксимальних і прямих каналців набряклий. Поодинокі епітеліоцити некротизовані (пунктирні стрілки). У просвіті каналців визначається пластинчастий і гіаліноподібний матеріал (чорні стрілки). Збарвлення за ван Гізоном. Зб. x200

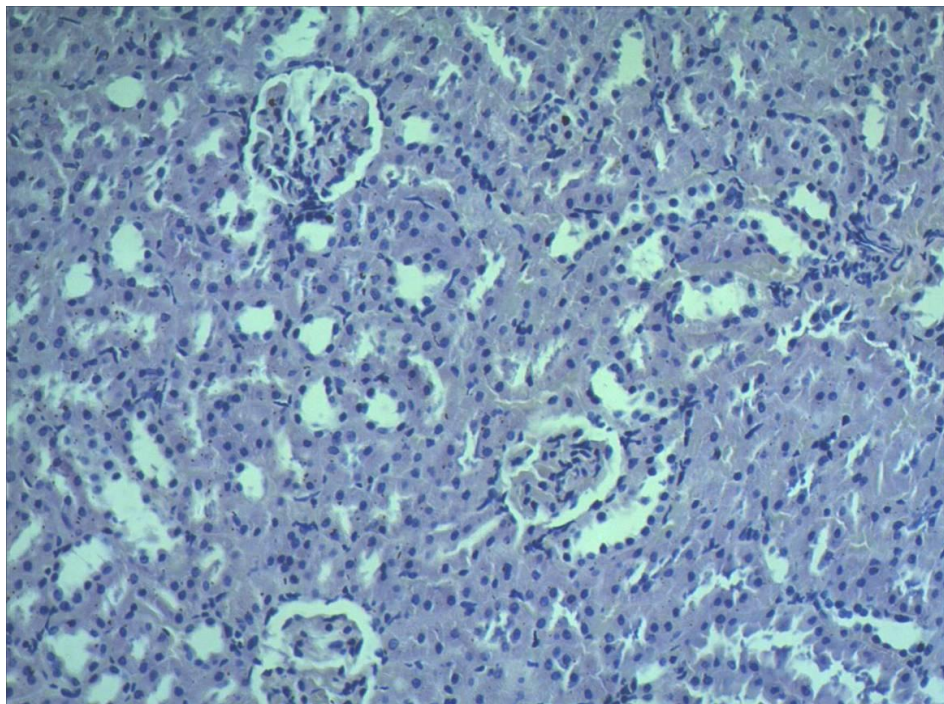


Рис. 3.23 Контроль. Збарвлення гематоксиліном та еозином. Зб. x100

3.4.4 Сім'яники. При дослідженні гістологічних препаратів сім'яників щурів контрольної групи був зафіксований активний сперматогенез із великою кількістю шарів сперматогенного епітелію та сперматозоїдів у канальцях.

В умовах стану експериментального гіпертиреозу у самців були виявлені такі патоморфологічні зміни гістологічної структури сім'яників: у третини щурів кількість сперматогенного епітелію була зменшеною; у третини – кількість сперматогенного епітелію була великою; чимала кількість сперматозоїдів зафіксована у канальцях; відзначається нерівномірна трохи зменшена кількість сперматозоїдів у канальцях сім'яників; у частині канальців сім'яників сперматида розташовані периваскулярно; різко виражений інтерстиціальний набряк; часткова десквамація адлюмінального та базального шарів звивистих канальців; клітини Лейдига розташовані нерівномірними групами переважно периваскулярно; зменшена кількість сперматогоній, що діляться, та сперматозоїдів; виражений склероз стінок артеріол; часткова десквамація сперматогенного епітелію, переважно адлюмінального шару; одиничний склероз стінок артеріол.

У гіпотиреоїдних самців переважали такі патоморфологічні ознаки: різко виражений інтерстиціальний набряк; зменшена кількість сперматогенного епітелію; нерівномірна трохи зменшена кількість сперматозоїдів у канальцях сім'яників; у частині канальців сім'яників сперматида були розташовані периваскулярно; розширення міжканальцевих просторів, у чверті самців спостерігалася наявність великої кількості сперматозоїдів у канальцях та сперматогенного епітелію; у частині канальців (не більше $\frac{1}{4}$ від загальної кількості) сім'яників було зафіксовано відсутність сперматозоїдів, сперматогенний епітелій був представлений лише до сперматоцитів першого порядку; сперматида відсутні; кількість сперматогоній була зменшеною; більшість звивистих канальців не містять у просвіті зрілих сперматозоїдів; стадія формування виявляється у меншій кількості звивистих канальців; сперматозоїди, що формуються, з'являлися на поверхні суспендоцитів уже не

тільки у середній частині адлюмінального шару, а опускалися до нижнього рівня адлюмінального компартменту; часткова десквамація адлюмінального та базального шарів звивистих каналців; у просвіті деяких каналців міститься десквамований епітелій; між сперматогоніями переважають темні (резервні) клітини, тимчасом як кількість світлих (що діляться) була зменшеною; клітини Лейдига розташовані нерівномірними групами переважно периваскулярно; у стромі виявлялося повнокров'я судин, переважно венул, та одиничний склероз стінок артеріол. Основні патоморфологічні ознаки, виявлені у самців гіпертиреоїдної та гіпотиреоїдної груп, представлені на рис. 3.24–3.28, у табл. 3.10 та опубліковані у роботі [101].

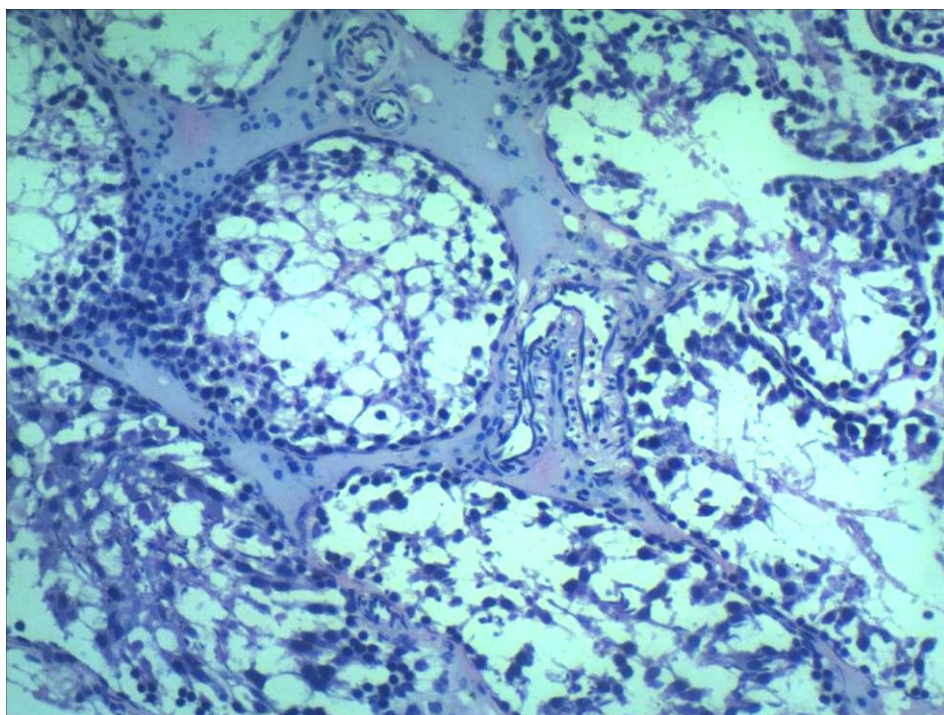


Рис. 3.24 Гіпертиреоїдна група. Нерівномірно зменшена кількість сперматогенного епітелію та сперматозоїдів. У частині каналців сперматиди нечисленні, склероз стінок артеріол. Забарвлення гематоксиліном та еозином. Зб. x200

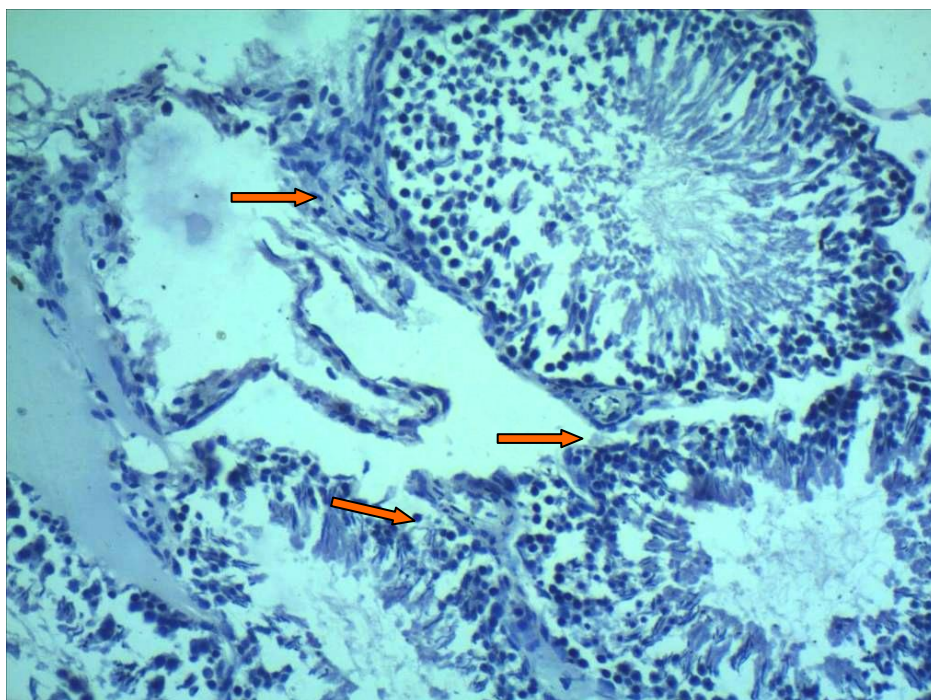


Рис. 3.25 Гіпертиреοїдна група. Нерівномірне зменшення кількості сперматогенного епітелію та сперматозоїдів. У частині каналців сперматиди нечисленні, склероз стінок артеріол (стрілки). Забарвлення гематоксиліном та еозином. Зб. x200

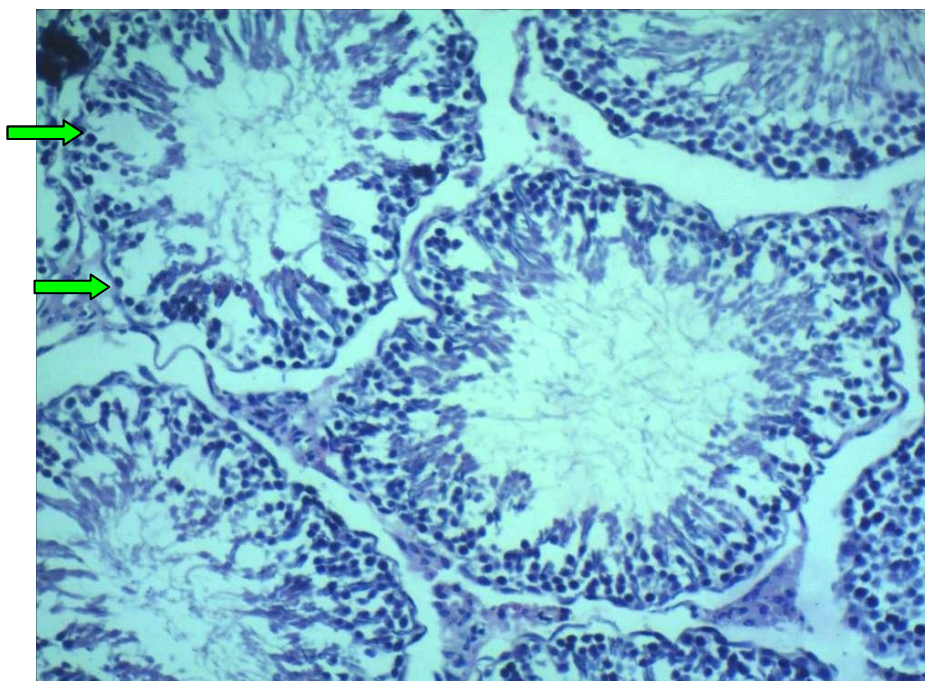


Рис. 3.26 Гіпотиреοїдна група. У деяких каналцях кількість шарів епітелію нерівномірно зменшена, відмічається їх часткова десквамація (стрілки). Розширені міжканалцеві простори. Забарвлення гематоксиліном та еозином. Зб. x200

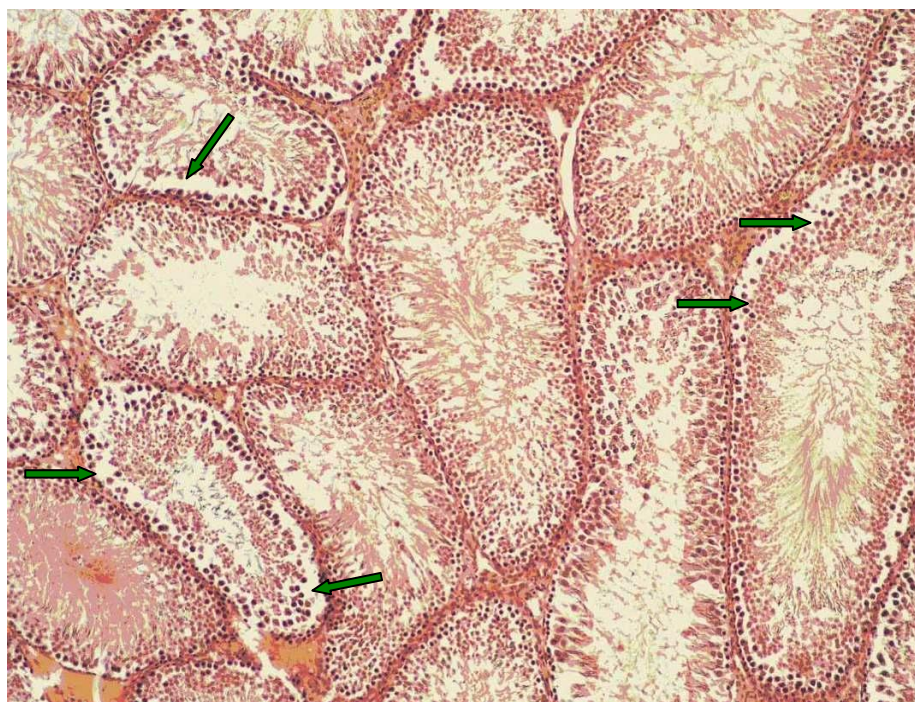


Рис. 3.27 Гіпотиреоїдна група. Повнокров'я судин у стромі, переважно венул. Різко виражений інтерстиціальний набряк. Часткова десквамація адлюмінального і базального шарів звивистих каналців (стрілки). Забарвлення за ван Гізоном. Зб. x100

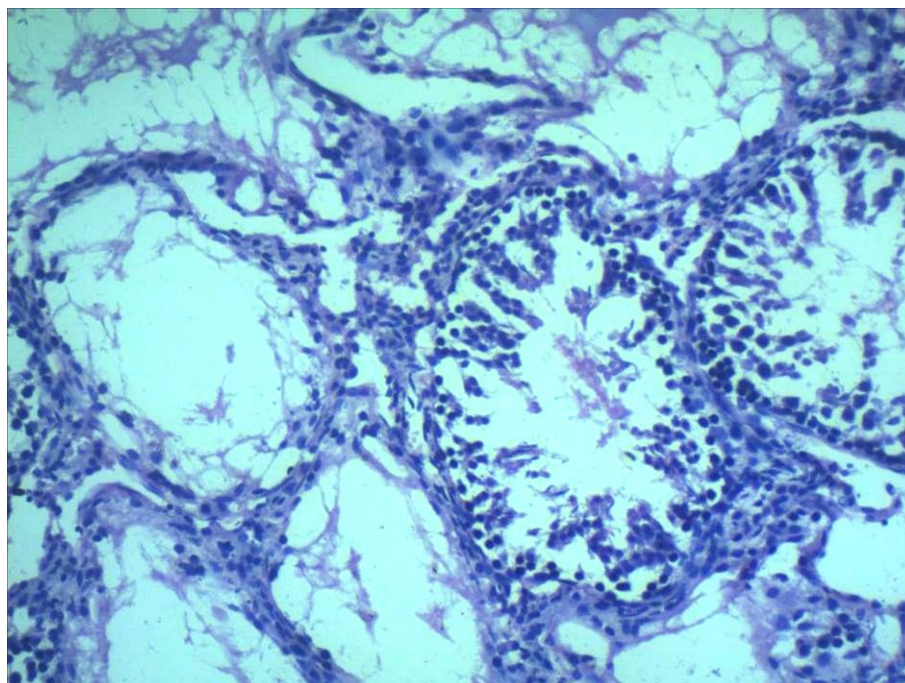


Рис. 3.28 Гіпотиреоїдна група. Зниження кількості сперматогоній, що діляться, і зрілих сперматозоїдів, зменшення товщини шару сперматогенного епітелію, у просвіті деяких каналців є злушений епітелій, виражений інтерстиціальний набряк. Забарвлення гематоксиліном та еозином. Зб. x100

Таблиця 3.10

Частота виявлення основних патоморфологічних ознак у сім'яниках щурів експериментальних груп (кількість щурів, відсоток у порівнянні з контролем)

Патоморфологічна ознака	Т♂, n=41	М♂, n=44	К♂, n=30
Велика кількість сперматогенного епітелію	12 (29,2 %)	11 (25 %)	30 (100 %)
Зменшена кількість сперматогенного епітелію	20 (48,7 %)	26 (59 %)	–
Сперматогенний епітелій представлений усіма шарами	–	–	30 (100 %)
Велика кількість сперматозоїдів у каналцях	12 (29,2 %)	11 (25 %)	30 (100 %)
Зменшена кількість сперматозоїдів	11 (26,8 %)	20 (45,4 %)	–
Більшість каналців не містять у просвіті зрілих сперматозоїдів, відсутні сперматиди	–	22 (49,9 %)	–
Різко виражений інтерстиціальний набряк	10 (24,3 %)	25 (56,8 %)	–
Часткова десквамація адлюмінального та базального шарів каналців	10 (24,3 %)	24 (54,5 %)	–
Розширення міжканалцевих просторів	–	13 (29,5 %)	–
Виражений склероз стінок артеріол	9 (21,8 %)	–	–

Примітки:

1. Т♂ – гіпертиреодні самці.

2. М ♂ – гіпертиреоїдні самці.
3. К ♂ – контрольна група самців.

3.4.5 М а т к а . При гістологічному вивченні мікропрепаратів маток самиць контрольної групи виявлено, що ендометрій був представлений щільною сполучнотканинноподібною стромою, у товщі якої розташовані ендометріальні залози. У стромі траплялися лімфоцити і гранулоцити. Їх концентрація максимальна у стромально-епітеліальній межі. Одиначні лімфоцити та нейтрофіли виявлялися в покривному епітелію. Епітелій залоз однорядний. Серед епітеліальних клітин залоз траплялася велика кількість світлих клітин. Спіральні судини численні з тонкою стінкою. Поверхневий (покривний) епітелій ендометрія багаторядний, з чималою кількістю світлих секреторних клітин.

У гістологічних препаратах маток самиць з гіпертиреозом переважали такі ознаки: нерівномірне кровонаповнення судинного русла – від спустошення переважно артерій до помірного повнокров'я вен, помірний склероз і відкладення волокон колагену в слизовому шарі, ніжні тонкі волокна колагену в підслизовому та субсерозному шарах, периваскулярно, в інтерстиції брижі. Дещо рідше при гіпертиреозі у матці виявлялися потовщення стінок артерій і артеріол за рахунок гіперплазії м'язових клітин, помірний проміжний набряк, помірна інфільтрація всіх шарів еозинофільними гранулоцитами, дифузно у всіх шарах наявність фібробластів, осередкова гіперплазія мезотелію, відкладення волокон колагену під мезотелієм у вигляді смуг, нерівномірний спазм артеріол в інтерстиції з формуванням ендотелію за типом частоколу, десквамація ендотелію в артеріях і артеріолах, проникнення колагенових волокон між гладком'язовими клітинами та між м'язовими пучками, незначна дифузна еозинофільна інфільтрація слизового і підслизового шарів, помірний набряк підслизового шару, осередкове відкладення волокон колагену в інтерстиції, складж у частині судин і стази в судинах венозного типу.

Переважаючими патоморфологічними змінами у матках самиць з

експериментальним гіпотиреозом були нерівномірне кровонаповнення судинного русла – від спустошення переважно артерій до помірного повнокров'я вен, наявність ніжних тонких волокон колагену в підслизовому і субсерозному шарах і периваскулярно, помірний склероз і відкладення волокон колагену в слизовому шарі, ніжні тонкі волокна колагену в інтерстиції брижі. Дещо рідше при гіпотиреозі у матці виявлялися такі ознаки: помірна осередкова атрофія залозистого епітелію слизової оболонки; осередкова помірна інфільтрація інтерстицію слизової оболонки лімфоцитами, одиничними плазмоцитами, гістіоцитами; помірний інтерстиціальний набряк; стази у судинах венозного типу; гофрування еластичної мембрани артерій і артеріол; розвиток капілярів субсерозно; незначна дифузна еозинофільна інфільтрація слизового і підслизового шарів; помірний набряк підслизового шару; відкладення в слизовому шарі жовто-коричневого пігменту у вигляді зерен та позаклітинних гранул; відкладення жовто-коричневих гранул у макрофагах; нерівномірний спазм артеріол в інтерстиції з формуванням ендотелію за типом частоколу; потовщення стінок артерій і артеріол за рахунок гіперплазії м'язових клітин; відкладення волокон колагену під мезотелієм у вигляді смуг; проникнення колагенових волокон між гладком'язовими клітинами та між м'язовими пучками; визрівання грануляційної тканини з ніжною сіткою колагенових волокон у підслизовому шарі.

Основні патоморфологічні ознаки, виявлені у самиць гіпертиреоїдної та гіпотиреоїдної груп, представлені у табл. 3.11, на рис. 3.29–3.34.

Таблиця 3.11

Частота виявлення основних патоморфологічних ознак у матці щурів експериментальних груп (кількість щурів, відсоток у порівнянні з контролем)

Патоморфологічна ознака	Г♀, n=41	М♀, n=45	К♀, n=31
1	2	3	4
Нерівномірне кровонаповнення судинного русла	30 (73,1 %)	32 (71,1 %)	–
Помірний інтерстиціальний набряк	17 (41,4 %)	4 (8,8 %)	–
Стази, сладж	15 (36,5 %)	3 (6,6 %)	–
Нерівномірний спазм артеріол, ендотелій за типом частоколу	13 (31,7 %)	8 (17,7 %)	–
Десквамація ендотелію в артеріях і артеріолах	13 (31,7 %)	–	–
Потовщення стінок артерій і артеріол	18 (43,9 %)	16 (35,5 %)	–
Помірна еозинофільна інфільтрація всіх шарів матки	17 (41,4 %)	–	–
Дифузна наявність фібробластів у всіх шарах	13 (31,7 %)	–	–
Помірна атрофія слизового шару	–	8 (17,7 %)	–
Осередкова гіперплазія мезотелію	13 (31,7 %)	–	–
Жовто-коричневі гранули у макрофагах та у слизовому шарі	–	22 (48,8 %)	–
Волокна колагену периваскулярно	27 (65,8 %)	25 (55,5 %)	–
Волокна колагену в інтерстиції брижі	31 (75,5 %)	22 (48,8 %)	–
Тонкі волокна колагену в підслизовому і субсерозному шарах	36 (87,8 %)	45 (100 %)	–

Таблиця 3.11 (продовження)

1	2	3	4
Помірний склероз і відкладення волокон колагену в слизовому шарі	25 (60,9 %)	24 (53,3 %)	–
Відкладення волокон колагену під мезотелієм у вигляді смуг	13 (31,7 %)	15 (33,3 %)	–
Проникнення колагенових волокон між гладком'язовими клітинами та між м'язовими пучками	12 (29,2 %)	12 (26,6 %)	–

Примітки:

1. Т♀ – гіпертиреοїдні самиці.
2. М♀ – гіпотиреοїдні самиці.
3. К♀ – самиці контрольної групи.

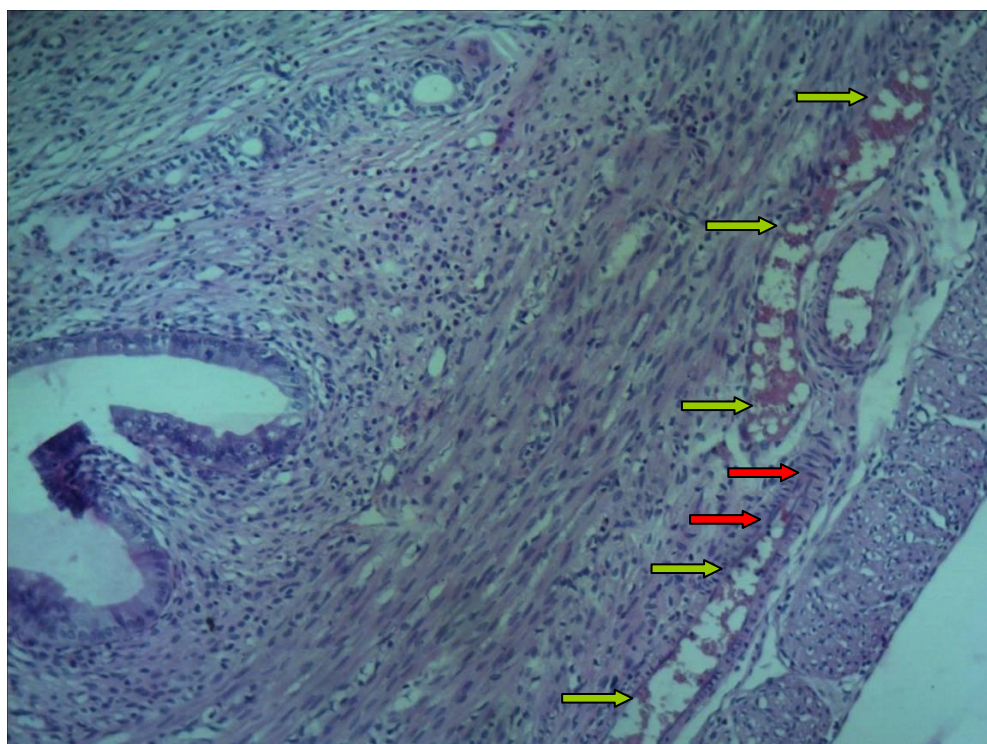


Рис. 3.29 Гіпертиреοїдна група. Виражене повнокров'я судин (зелені стрілки), складж у частині судин. Десквамація ендотелію в артеріях і артеріолах. Потовщення стінок артерій. У частині судин ендотелій за типом частоколу (червоні стрілки). Забарвлення гематоксиліном та еозином. Зб. x100

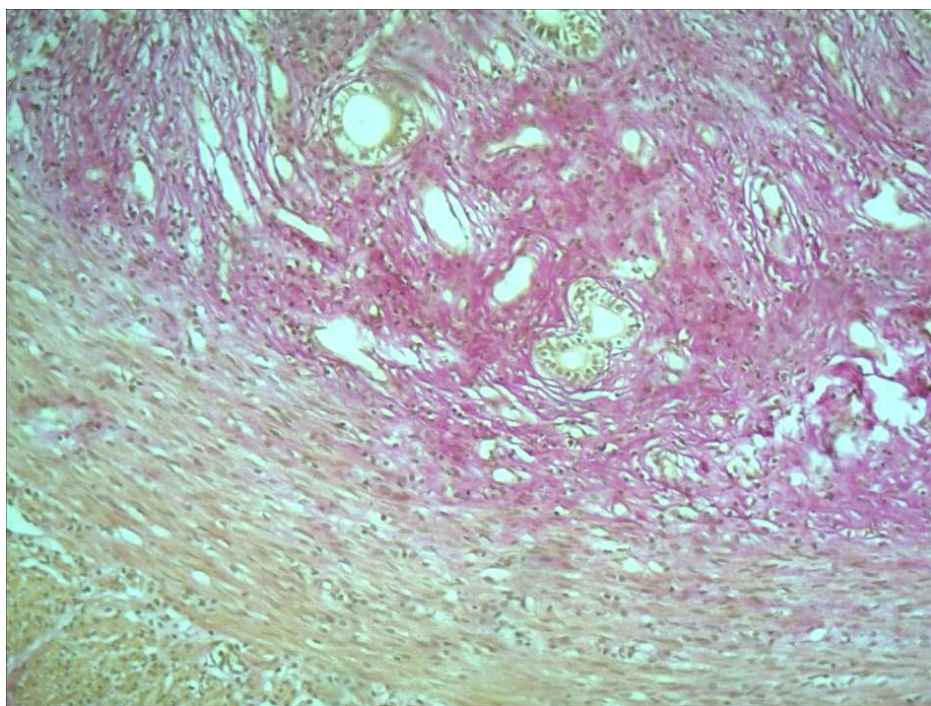


Рис. 3.30 Гіпертиреοїдна група. Помірний проміжний набряк. Проникнення волокон колагену між залозами ендометрія, між гладком'язовими клітинами та м'язовими пучками. Забарвлення за ван Гізоном. Зб. x100

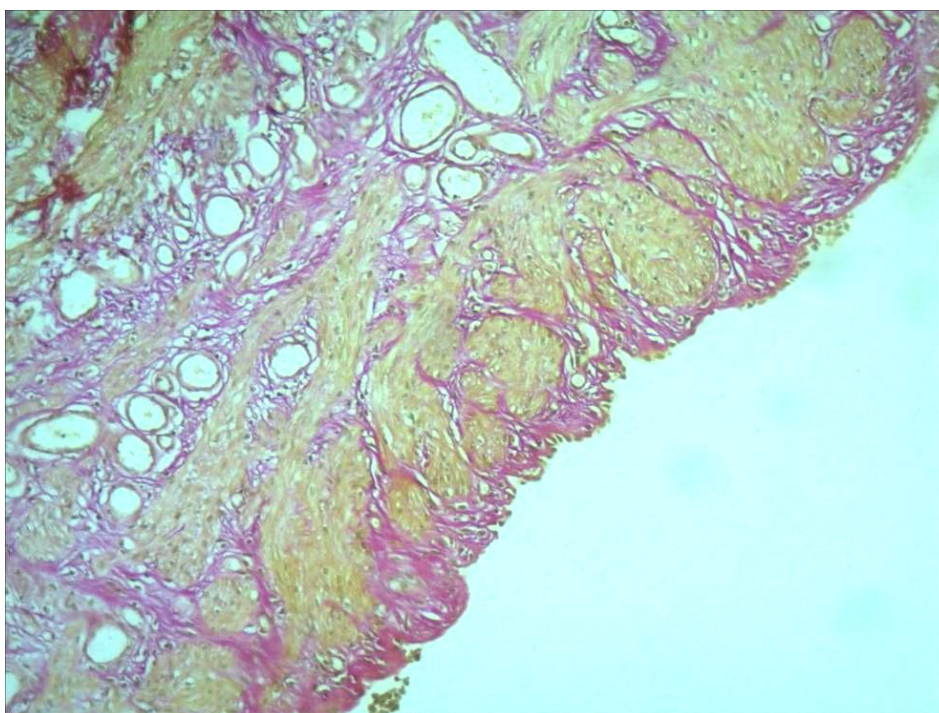


Рис. 3.31 Гіпертиреοїдна група. Помірний проміжний набряк. Відкладення волокон колагену в субсерозному шарі, з проникненням волокон між гладком'язовими клітинами, м'язовими пучками. Осередкова гіперплазія мезотелію. Забарвлення за ван Гізоном. Зб. x100

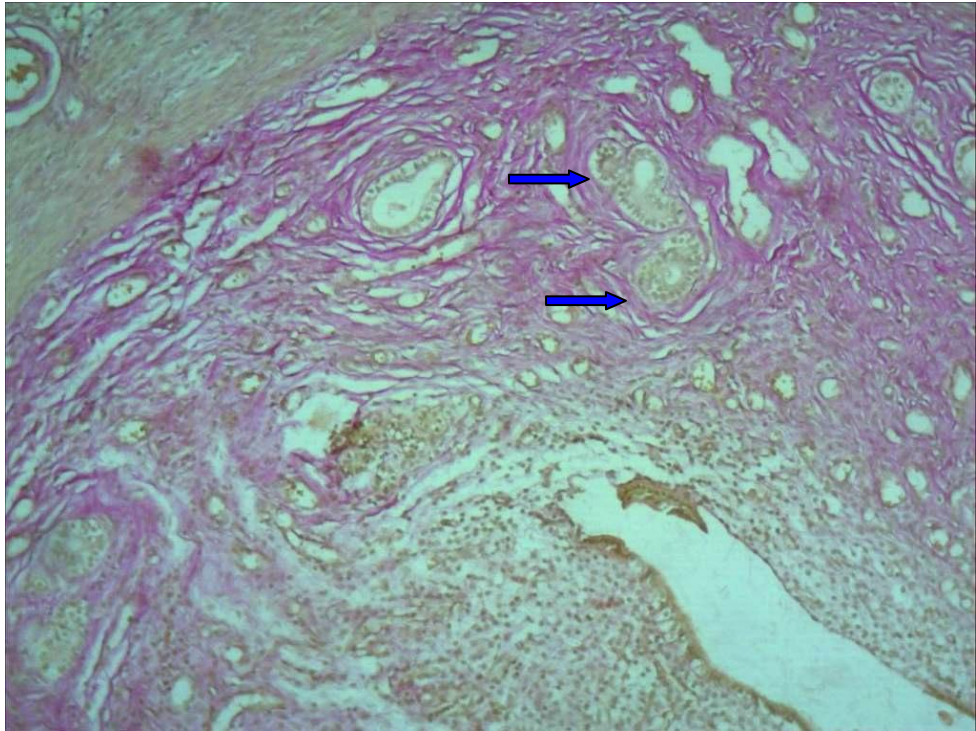


Рис. 3.32 Гіпотиреоїдна група. Нерівномірне кровонаповнення судинного русла. Ніжні тонкі волокна колагену периваскулярно, в інтерстиції (стрілки), у підслизовому та субсерозному шарах. Забарвлення за ван Гізоном. Зб. x100

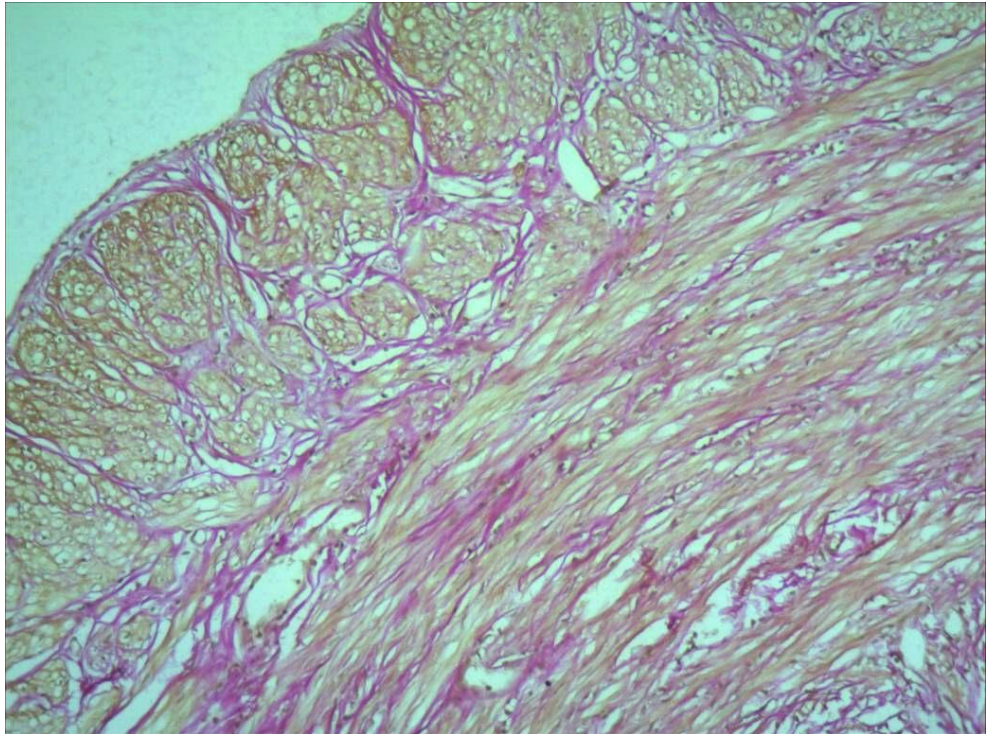


Рис. 3.33 Гіпотиреоїдна група. Проникнення волокон колагену між гладком'язовими клітинами та м'язовими пучками. Відкладення волокон колагену в усіх шарах. Забарвлення за ван Гізоном. Зб. x100

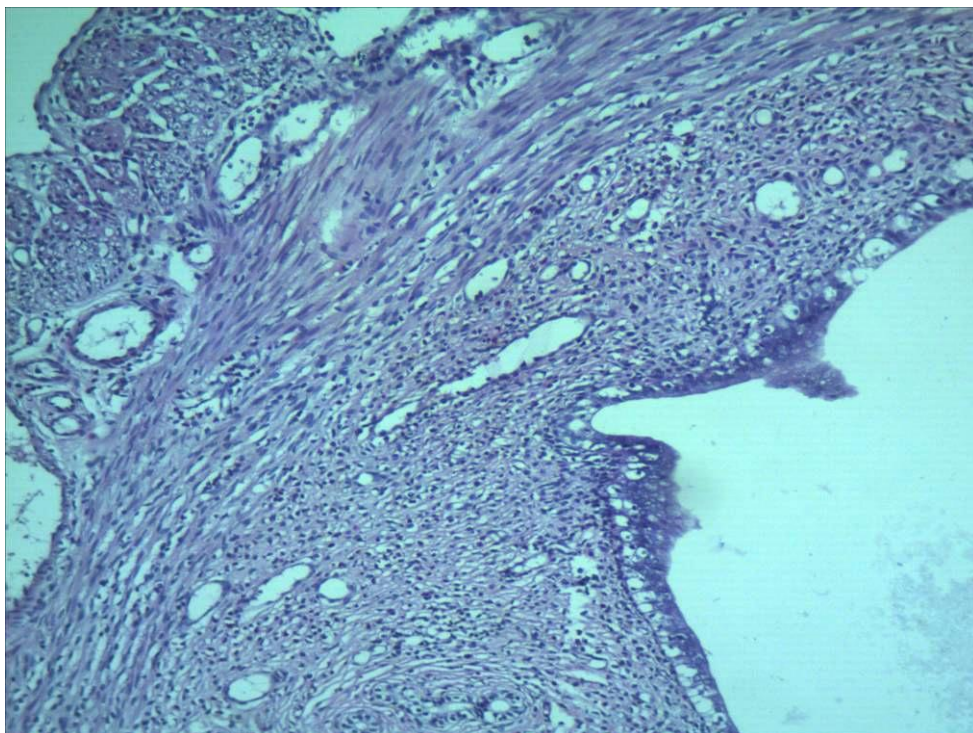


Рис. 3.34 Контроль. Забарвлення гематоксиліном та еозином. Зб. x100

3.5 Морфометричне дослідження органів

Для більш детального визначення фіброзних змін, викликаних гіпертиреозом і гіпотиреозом, у досліджуваних органах (серце, печінка, нирки, матка, сім'яники) визначали такі патоморфологічні параметри: паренхіматозно-мезенхімальний індекс та об'ємну частку сполучної тканини в органах.

Для підрахунку відсотка сполучної тканини у печінці щурів експериментальних груп, які зазнали впливу зміненого рівня ТГ, були знайдені зміни, показані у табл. 3.12.

Морфометричні показники фіброзу печінки

Група	Об'ємна частка сполучної тканини, %	Паренхіматозно- мезенхімальний індекс
Контроль (самиці)	2,01±0,10	48,7
Контроль (самці)	1,98±0,01	49,5
Гіпотиреоїдні самиці	2,02±0,02	48,5
Гіпотиреоїдні самці	1,99±0,09	49,2
Гіпертиреоїдні самиці	2,55±0,10 *, **	38,2
Гіпертиреоїдні самці	2,71±0,16 *, **	35,9

Примітки:

1. * – вірогідна різниця між експериментальною групою та контролем ($p < 0,001$).
2. ** – вірогідна різниця між обома експериментальними групами ($p < 0,001$).

Так, у гіпотиреоїдних щурів не було виявлено змін вмісту сполучної тканини у печінці порівняно з контрольною групою. А у групі гіпертиреоїдних щурів визначалося вірогідне підвищення об'єму сполучної тканини у печінці ($p < 0,001$) та відповідне зниження значення паренхіматозно-мезенхімального індексу. Була знайдена вірогідна різниця між експериментальними групами. Значущої різниці між даними за статтю не було відмічено.

У нирках гіпотиреоїдних щурів спостерігалось вірогідне підвищення вмісту строми ($p < 0,001$) у порівнянні з контролем, у 2,2 разу у самиць і у 2,3 разу у самців. У нирках гіпертиреоїдної групи спостерігалися більш значні

фіброзні зміни, які характеризувалися вірогідним підвищенням відсотка сполучної тканини у 2,7 разу ($p < 0,001$) у самиць та у 2,9 разу ($p < 0,001$) у самців порівняно з контролем. Також у експериментальних групах було зафіксовано відповідне зниження паренхіматозно-мезенхімального індексу, що корелювало з патоморфологічними фіброзними змінами у нирках. Була отримана вірогідна різниця даних між групами. Значущої вірогідної різниці за статтю не було знайдено. Ці дані наведені у табл. 3.13.

Таблиця 3.13

Морфометричні показники фіброзу нирок

Група	Об'ємна частка сполучної тканини, %	Паренхіматозно-мезенхімальний індекс
Контроль (самиці)	1,13±0,07	87,4
Контроль (самці)	1,12±0,01	88,2
Гіпотиреоїдні самиці	2,5±0,5 *	39
Гіпотиреоїдні самці	2,58±0,25 *	37,7
Гіпертиреоїдні самиці	3,13±1,09 **	30,9
Гіпертиреоїдні самці	3,32±0,19 *, **	29,1

Примітки:

1. * – вірогідна різниця між експериментальною групою та контролем ($p < 0,001$).
2. ** – вірогідна різниця між обома експериментальними групами ($p < 0,001$).

У експериментальних групах самців було зафіксовано вірогідне зниження вмісту сполучної тканини у сім'яниках при гіпотиреозі та при гіпертиреозі. Також з метою підтвердження системного впливу ТГ на сперматогенез була підрахована кількість статевих клітин. Відмічалось вірогідне зниження кількості сперматид і сперматозоїдів у гіпотиреоїдній групі у 5,7 разу у порівнянні з контролем ($p < 0,001$), у гіпертиреоїдній групі – удвічі ($p < 0,001$). Данні наведені у табл. 3.14 і 3.15.

Таблиця 3.14

Морфометричні показники фіброзу сім'яників

Група	Об'ємна частка сполучної тканини, %	Частка неінформативного об'єму зрізу, %	Злущений епітелій у просвіті каналців, %	Паренхіматозно-мезенхімальний індекс
Контроль (самці)	8,48±0,02	5	–	11,2
Гіпотиреоїдні самці	0,92±0,0006 *	30	45	27,17
Гіпертиреоїдні самці	3,55±0,008 *, **	14	35	14,36

Примітки:

1. * – вірогідна різниця між експериментальною групою та контролем ($p < 0,001$).
2. ** – вірогідна різниця між обома експериментальними групами ($p < 0,001$).

Таблиця 3.15

Кількість статевих клітин у сім'яниках

Група	Сперматиди	Сперматозоїди	Загальна кількість
Контроль самці	880,83±80,06	1169,60±83,39	2050,43±166,72
Гіпотиреоїдні самці	166,98±7,56 *	188,5±6,2 *	355,48±44,15 *
Гіпертиреоїдні самці	655,6±63,5 *, **	292,72±23,56 *, **	948,32±209,51 *, **

Примітки:

- * – вірогідна різниця між експериментальною групою та контролем ($p < 0,001$).
- ** – вірогідна різниця між обома експериментальними групами ($p < 0,001$).

У слизовій оболонці матки визначили вміст сполучної тканини. У гіпотиреоїдній групі цей показник був вірогідно підвищеним у 1,4 разу ($p < 0,001$), у гіпертиреоїдній групі – утричі ($p < 0,001$). Була отримана вірогідна різниця між значеннями експериментальних груп ($p < 0,001$). Таким чином, вплив ТГ є важливим фактором у розвитку фіброзних змін матки, але підвищений вміст ТГ є більш значущим. Дані наведені у табл. 3.16.

Таблиця 3.16

Морфометричні показники фіброзу матки

Група	Об'ємна частка сполучної тканини, %	Паренхіматозно-мезенхімальний індекс
Контроль (самиці)	1,48±0,001	66,56
Гіпотиреоїдні самиці	2,18±0,004	44,8
Гіпертиреоїдні самиці	4,44±0,001 *, **	21,5

Примітки:

1. * – вірогідна різниця між експериментальною групою та контролем ($p < 0,001$).
2. ** – вірогідна різниця між обома експериментальними групами ($p < 0,001$).

У міокарді щурів групи експериментального гіпертиреозу було виявлено вірогідне підвищення вмісту сполучної тканини – у 1,98 разу у самиць та у 1,87 разу у самців порівняно з контрольною групою. У групі щурів з гіпотиреозом також визначалося надмірне нагромадження колагену – у 2,4 разу у самиць та у 2,5 разу у самців. Отримані дані показані у табл. 3.17.

Таблиця 3.17

Морфометричні показники фіброзу міокарда

Група	Об'ємна частка сполучної тканини, %	Паренхиматозно-мезенхимальний індекс
Контроль (самиці)	1,30±0,01	62,6
Контроль (самці)	1,40±0,05	58
Гіпотиреодні самиці	3,30±0,19 *	19,9
Гіпотиреодні самці	3,60±0,06 *	17
Гіпертиреодні самиці	2,70±0,04 *, **	26,9
Гіпертиреодні самці	2,70±0,12 *, **	26,2

Примітки:

1. * – вірогідна різниця між експериментальною групою та контролем ($p < 0,001$).
2. ** – вірогідна різниця між обома експериментальними групами ($p < 0,001$).

Для кількісного підтвердження розвитку гіпертрофії міокарда визначали середній розмір кардіоміоцитів. Діаметр кардіоміоцитів у гіпертиреодній групі

був підвищений у 1,22 разу у самиць та у 1,15 разу у самців порівнянно з контролем. У гіпотиреоїдних тварин був відмічений збільшений діаметр кардіоміоцитів у порівнянні з контролем: у самиць у 1,38 разу, у самців – у 1,34 разу. Дані представлені у табл. 3.18.

Таблиця 3.18

Діаметр кардіоміоцитів, мкм

Група	Діаметр
Контроль (самиці)	18,36±0,14
Контроль (самці)	18,96±0,15
Гіпертиреоїдні самиці	22,56±0,30 *
Гіпертиреоїдні самці	21,85±0,28 *
Гіпотиреоїдні самиці	25,39±0,37 *, **
Гіпотиреоїдні самці	25,55±0,31 *, **

Примітки:

1. * – вірогідна різниця між експериментальною групою та контролем ($p < 0,001$).
2. ** – вірогідна різниця між обома експериментальними групами ($p < 0,001$).

Таким чином, проведені дослідження показали, що при моделюванні гіпотиреозу на фоні зниження рівню гормонів ЩЗ відбувається підвищення рівня естрадіолу, прогестерону у самиць та зниження рівня тестостерону у самців. При експериментальному гіпертиреозі спостерігаються підвищення рівня ТГ та статевих гормонів у самиць та майже незмінний рівень тестостерону у самців. Відмічені гендерні відмінності у рівнях Т4 та Т3 при експериментальних станах.

Ферментативна активність DNMT підвищувалась як при гіпертиреозі, так і при гіпотиреозі. Активність ферменту при гіпертиреозі у самців та у самиць перевищувала показники при гіпотиреозі у 1,7 разу. У самиць із гіпотиреозом

була виявлена вірогідна залежність між вмістом в. ТЗ й активністю DNMT ($r=0,54$; $p<0,05$).

Зважування лабораторних тварин протягом усього експерименту показало, що гіпертиреοїдні самці та самиці набували маси у меншому ступеню за контрольну групу. Значущих статевих відмінностей у групі гіпертиреозу не було знайдено. Показники приросту маси тіла гіпотиреοїдної групи переважають значення контрольної групи. Також, слід зазначити, що гіпотиреοїдні самці додавали більше у вазі за самиць з гіпертиреозом.

При підрахунку відсотка сполучної тканини у мікропрепаратах органів щурів були знайдені відмінності залежно від групи. Так, у гіпотиреοїдних щурів не було виявлено змін вмісту сполучної тканини у печінці порівняно з контрольною групою. А у групі гіпертиреοїдних щурів визначалося вірогідне підвищення об'єму сполучної тканини у печінці. Значущої різниці у даних за статтю не було відмічено.

У нирках гіпотиреοїдних щурів спостерігалось вірогідне підвищення вмісту стромы ($p<0,001$) у порівнянні з контролем, у 2,2 разу у самиць та у 2,3 разу у самців. У нирках гіпертиреοїдної групи були отримані більш значні фіброзні зміни, які характеризувалися вірогідним підвищенням відсотку сполучної тканини у 2,7 разу ($p<0,001$) у самиць та у 2,9 разу ($p<0,001$) у самців порівняно з контролем. Також у експериментальних групах було зафіксовано відповідне зниження паренхіматозно-мезенхімального індексу, що корелювало з патоморфологічними фіброзними змінами у нирках. Значущої вірогідної різниці за статтю не було знайдено.

В експериментальних групах самців був визначений вплив ТГ на сперматогенез: вірогідне зниження кількості сперматид і сперматозоїдів у гіпотиреοїдній групі у 5,7 разу у порівнянні з контролем, у гіпертиреοїдній групі – удвічі.

У гіпотиреοїдній групі вміст сполучної тканини у слизовій оболонці матки був вірогідно підвищеним у 1,4 разу ($p<0,001$), у гіпертиреοїдній групі –

утричі ($p < 0,001$). Таким чином, вплив ТГ є важливим фактором у розвитку фіброзних змін матки, але підвищений вміст ТГ є більш значущим.

У міокарді щурів групи експериментального гіпертиреозу було виявлено вірогідне підвищення вмісту сполучної тканини: у 1,98 разу у самиць та у 1,87 разу у самців порівняно з контрольною групою. У групі щурів з гіпотиреозом також визначалося надмірне нагромадження колагену: у 2,4 разу у самиць та у 2,5 разу у самців. Діаметр кардіоміоцитів у гіпотиреоїдній групі експериментальних тварин був вірогідно вищим за значення контролю.

РОЗДІЛ 4

АНАЛІЗ І УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

4.1 Рівень гормонів щитоподібної залози та статевих гормонів при експериментальному гіпер- і гіпотиреозі

Показано, що двотижневий прийом мерказолілу у самиць призводить до вірогідного зниження в. Т4 у 2,9 разу ($p < 0,001$), в. Т3 у 2,6 рази ($p < 0,001$) та у самців – в. Т4 у 3,6 разу ($p < 0,001$) і в. Т3 у 2 разу ($p < 0,001$) у порівнянні з контрольною групою. Отже, за умов гіпотиреозу відбувається зниження у більшій мірі рівню Т4, тобто можливо вважати, що при гіпотиреозі відбувається продукція переважно Т4. Це логічно, виходячи з того, що Т3 утворюється в основному у стресових ситуаціях, які потребують швидкого реагування, а Т4, скоріш за все, є гормоном рутинної дії, який регулює повсякденні метаболічні процеси. На фоні загального дефіциту ТГ забезпечується продукція гормону, необхідного для підтримки життєзабезпечення. Рівень в. Т3 у гіпотиреодних самців знижується у 1,5 рази більше, ніж у самиць. В опублікованих даних не було знайдено різниці за статтю між рівнями гормонів ЩЗ. Рівень статевих гормонів у гіпотиреодних самиць показав такі зміни: вміст естрадіолу ($p < 0,001$) та прогестерону ($p < 0,05$) вірогідно перевищувала майже удвічі показники контрольної групи. Таким чином, при гіпотиреодному стані на фоні зниження рівню ТГ у самиць відбувається підвищення рівня статевих гормонів. Ці данні співпадають з даними літератури. Так, показано, що гіпотиреоз у зрілих самиць пригнічує розвиток фолікулів, який супроводжується секрецією естрадіолу, тимчасом як вміст прогестерону і пролактину плазми збільшився у гіпотиреодних самиць [12, 104, 105]. Водночас, згідно з Нарон при моделюванні гіпотиреозу у самиць щурів було виявлено зниження рівню естрадіолу та рівня циркулюючого

прогестерону [106]. Швидше за все, така неоднозначна оцінка впливу гіпотиреоїдного статусу самиць щурів на рівень статевих гормонів і пов'язані з ним репродуктивні властивості обумовлені різницею у експериментальних моделях гіпотиреозу та їх тривалістю. Функцію ЩЗ регулює ТТГ гіпофіза, секрецію якого контролює ТРГ гіпоталамуса. Також ТРГ стимулює секрецію пролактину. Доведено, що лютеїнізуючий гормон (ЛГ), фолікульостимулювальний гормон (ФСГ), хор іонічний гормон (ХГ) та ТТГ – це складні глікопротеїди, які складаються з альфа- і бета-субодиниць. Структура альфа-субодиниці – ЛГ, ФСГ, ХГ та ТТГ – ідентична, а бета-субодиниця – специфічна для кожного гормону і визначає його лютеїнізуючу, фолікулостимулюючу та тиреотропну активність [107–109]. Відомо, що естрогени можуть стимулювати функцію ЩЗ за рахунок інтенсифікації синтезу тироксин-зв'язувального глобуліну в печінці [109]. Показана наявність рецепторів до ТТГ і Т3 в яєчнику, що визначає можливість прямого впливу дисфункції ЩЗ на стероїдогенез, овуляцію, функцію жовтого тіла [110]. Більшість дослідників вважають, що передня частка гіпофіза є основною ланкою, за допомогою якої відбувається взаємозв'язок між яєчниками та ЩЗ [110, 111]. Естрогени і ТГ можуть змінювати екскрецію ТТГ і пролактину, впливаючи на різні рівні регуляції синтезу та секреції ТРГ та специфічні гормональні реакції передньої частки гіпофіза. Дисбаланс ТГ може змінювати концентрацію активних стероїдів всередині клітин-мішеней гіпоталамуса, гіпофіза і тим самим порушувати механізм позитивних і негативних зворотних зв'язків [112].

Допускається, що дефіцит гормонів ЩЗ порушує інактивацію естрогенів з утворенням їх менш активних форм, що може призводити до підвищення рівня естрогенів і порушення функціонування механізму негативного зворотного зв'язку в регуляції секреції гонадотропінів (ФСГ і ЛГ) [113]. У нашому експерименті рівень в. Т3 у гіпотиреоїдних самців знизився у 1,5 рази більше, ніж у самиць. Дефіцит ТГ, ймовірно, призводить до зміни синтезу та

вивільнення статевих гормонів, спричиняючи дисбаланс у розвитку їх периферичних ефектів [12].

Також слід відзначити майже незмінений рівень тестостерону ($p < 0,05$) у гіпотиреоїдних самців, що становить 86,3 % у порівнянні з контролем. Так, гіпотиреоз у самців пов'язують зі зниженням рівня тестостерону в сироватці крові [12, 113, 114], також повідомляють, що при різних моделях гіпотиреозу рівень тестостерону був збільшеним, зменшеним або у межах норми [114].

Відомо, що ТГ стимулюють синтез специфічного глікопротеїну SHBG (глобуліну, що зв'язує статеві гормони) у печінці, який з високою афінністю зв'язує тестостерон, дегідротестостерон (ДГТ) та з меншою афінністю – естрадіол. Для гіпотиреозу характерне зниження рівня лобуліну, зв'язуючого статеві гормони (SHBG) у крові, що призводить до підвищення рівня біологічно активного тестостерону, який, у свою чергу, пригнічує овуляцію. Дефіцит гормонів ЩЗ порушує інактивацію естрогенів з утворенням їх менш активних форм, що призводить до підвищення рівня естрогенів і порушення адекватного механізму зворотного зв'язку у регуляції секреції гонадотропінів (ФСГ, ЛГ). Таким чином, дефіцит ТГ призводить до зміни процесів синтезу, транспорту, обмінних процесів і периферичних ефектів статевих гормонів.

При моделюванні гіпертиреозу у самиць визначили вірогідне підвищення рівня в. Т4 у 1,8 разу ($p < 0,001$) та в. Т3 у 2 разу ($p < 0,001$), у самців рівень ТГ перевищував значення контрольної групи – в. Т4 у 3,6 разу ($p < 0,001$) та в. Т3 у 2,5 разу ($p < 0,001$). Рівень естрадіолу гіпертиреоїдних самиць перевищував значення контрольної групи у 1,5 рази ($p < 0,001$), а прогестерону – у 1,7 разу ($p < 0,001$). Рівень тестостерону самців знижувався у 2,6 разу у порівнянні з контролем. У гіпертиреоїдних самців вміст в. Т3 підвищується у 1,5 разу більше, ніж у гіпертиреоїдних самиць. Вміст в. Т4 підвищувався у 2,3 разу більше у самців, ніж у самиць з гіпертиреозом.

Відповідно до опублікованих даних, вплив гіпертиреозу на гормональну активність статевих залоз є неоднозначним. Деякі автори демонструють збільшення рівню естрадіолу у крові у 2-3 рази при гіпертиреозі протягом усіх

фаз естрального циклу, що пояснюється підвищенням рівня SHBG [104], інші джерела показують підвищення рівня незв'язаних естрогенів [12, 115]. Чи повністю збільшення естрогену плазми самиць пов'язане з підвищенням SHBG або чи існує фактичне збільшення вільного естрогену, як у випадку з гіпертиреоїдними самцями, залишається у стадії дискусії. Швидкість метаболізму естрадіолу зменшується при гіпертиреозі, у значній мірі через збільшення зв'язування естрадіолу з SHBG [116]. Також трапляються зміни у рівні циркулюючих андрогенів у гіпертиреоїдних самиць. Темпи секреції тестостерону й андростендіону значно підвищені у гіпертиреоїдних особин. Збільшується частота конверсії андростендіону до естрогену, а також тестостерону до естрадіолу при гіпертиреозі [116].

У самців обох експериментальних груп у нашому експерименті виявляється значне зниження рівня тестостерону. У літературі трапляється інформація, що гіпертиреоз пов'язаний з підвищенням загального рівня тестостерону [113] та з нормальним вмістом вільного або біологічно активного тестостерону [117]. Причиною цих змін є збільшення рівня SHBG, пов'язаного з гіпертиреозом. Збільшення SHBG викликає відносне зниження рівня вільного тестостерону, що призводить до підвищення ЛГ у крові (негативна відповідь) і до подальшого збільшення рівню тестостерону, а за допомогою периферичного перетворення збільшується рівень естрадіолу в сироватці крові.

Синтез тестостерону й естрадіолу при гіпертиреозі знижується, але андростендіону і естрогену залишалися в межах норми. Перетворення тестостерону в андростендіон і тестостерон в дигідротестостерон (ДГТ) знижується, тимчасом як, андростендіону в тестостерон і андростендіону в ДГТ збільшується [116]. Ці зміни можна пояснити підвищенням сироваткового рівня SHBG, який зв'язує тестостерон і ДГТ, але не андростендіон [115, 116].

Тестостерон, ДГТ, а також в деякій мірі естрадіол, циркулюють у плазмі крові та частково зв'язуються з SHBG, який синтезується в печінці. Сироватковий рівень SHBG безпосередньо залежить від рівня ТГ у крові. Статеві гормони, зв'язані з SHBG, є неактивними. Незв'язані статеві гормони

або зв'язані з альбуміном є біологічно активними. Вміст тестостерону в яєчках підтримується на високому рівні в порівнянні з вмістом у сироватці крові за допомогою андроген-зв'язувального білка, який секретується клітинами Сертолі під впливом ФСГ [116, 117]. Висока інтратестикулярна концентрація тестостерону може бути необхідною для нормального функціонування клітин Сертолі або може відігравати певну роль у сперматогенезі та транспорті сперматозоїдів. Периферичне перетворення андрогенів в естрогени посилене при тиреотоксикозі, ймовірно, у зв'язку зі зміною периферичного кровотоку, а не завдяки прямому впливу Т4 на комплекс ароматази.

Гендерні відмінності, що спостерігаються у дослідних щурів залежно від функціонального стану ЩЗ, вочевидь пояснюються особливостями стероїдогенезу та трансформацією стероїдних гормонів за умов різної активності ТГ [12, 116, 117]. Крім того, не можна виключати наявність прямих стимулювальних ефектів Т4 та Т3 на інкреторний апарат статевих залоз, що підтверджується даними патоморфологічних досліджень. Одним з ймовірних механізмів впливу ТГ на лютеїнову фазу естрального циклу є опосередкований вплив на продукцію пролактину гіпоталамусом, а також реципрокні співвідношення із синтезом попередників андрогенів (дегідроепіандростерон, андростендіон), а в подальшому – естрогенів (естріол, естрадіол) [105, 117]. Зважаючи на те, що активність системи цитохромів P450 тісно пов'язана з впливом ТГ, будь-які функціональні відхилення від еутиреоїдного стану можуть призвести як до зменшення синтезу прогестеронів (прегненолону та 17 α -прегнолону), так їх подальшої трансформації у прогестерон та андрогени, які, в свою чергу, за допомогою ферменту ароматази C19A1 трансформуються у естрогени [12, 105]. Слід також зазначити, що при зміні активності трансформації прогестеронів у гестогени змінюється продукція деоксикортикостерону, а в подальшому – глюкокортикоїдів і мінералокортикоїдів, які здатні впливати як на судинний тонус, так і на активність процесів при запаленні [114]. Таким чином, гормональні ефекти ТГ не обмежуються впливом на специфічні рецептори, а можуть бути причиною

цілої низки патофізіологічних змін, у тому числі на рівні гендерспецифічних патофізіологічних феноменів у вигляді зміни біосинтезу стероїдних гормонів.

Виявлене підвищення вмісту статевих гормонів у крові самиць при гіпо- та гіпертиреозі, ймовірно, можна пояснити так: по-перше, за умов порушення функціонального стану ЩЗ при гіпо- та гіпертиреозі відбувається "злам" нейрогуморальної регуляції в організмі в цілому [113], який підсилюється зникненням або залишковим функціонуванням регуляторного механізму негативного "зворотнього зв'язку" та появою нового механізму позитивного "зворотнього зв'язку", спрямованого на підсилення відзначених патологічних проявів досліджуваної патології, одним із патогенних ефектів чого може бути підвищення вмісту статевих гормонів у самиць. По-друге, не слід виключати енергетичні функції стероїдних статевих гормонів [114, 115], які, за нашою думкою, є вирішальними за умов гіпо- та гіпертиреозу через надмірну вираженість процесів біохімічного катаболізму. Однобічність виявлених гормональних ефектів при гіпо- та гіпертиреозі демонструє, як ми вважаємо, процес декомпенсації при тривалій зміні функціональної активності ЩЗ за умов досліджуваної патології.

4.2 Патоморфологічні зміни в органах

Показано, що двотижневе застосування Т4 і мерказолілу в групах тварин призвело як до специфічних, так і до неспецифічних структурних змін тканин органів, які мали в основі адаптаційно-приспосувальні реакції на зміну тиреоїдного статусу.

При морфологічному дослідженні були виявлені ознаки гострої судинної недостатності в усіх органах, що вивчалися (нерівномірне кровонаповнення кровоносного русла, помірне повнокров'я вен, спустошення артерій; значне повнокров'я мікроциркулярного русла; стази у судинах венозного типу та

сладж в частині судин; виражений інтерстиціальний набряк; тільки у серці гіпотиреоїдних самців спостерігався смугастий фіброз м'язово-еластичного шару, тільки у гіпертиреоїдних самиць – смугастий фіброз субендотеліального шару. У нирках відмічалися гіперемія капілярних петель клубочків, набухання епітелію проксимальних і прямих каналців тільки у гіпотиреоїдних щурів, відкладення еозинофільних білкових мас у просвіті окремих проксимальних каналців більшою мірою у гіпертиреоїдних щурів. У печінці було виявлено розширення синусоїдних капілярів, що відзначалося частіше у гіпотиреоїдних щурів. У сім'яниках усіх експериментальних груп було зафіксовано збільшення міжканалцевих просторів. Виявлені патоморфологічні зміни, які характерні для гострої судинної недостатності, швидше за все, викликані способом виведення лабораторних тварин з експерименту.

В інтерстиції мозкової речовини нирок було виявлено відкладення гомогенних еозинофільних білкових мас у вигляді смуг, в апікальному кінці епітелію звивистих каналців – відкладення дрібнозернистих гомогенних еозинофільних білкових мас, що є ознаками зернистої дистрофії, пов'язаної з підвищеною проникністю судинних петель клубочка, виділенням білка і його зворотною реабсорбцією епітелієм каналців. У печінці спостерігалися ознаки вакуольної дистрофії гепатоцитів, що свідчить про розвиток токсичного гепатиту; зернистої дистрофії частини периферичних гепатоцитів й окремих робочих кардіоміоцитів як прояв гіпоксії; краплинна жирова паренхіматозна дистрофія гепатоцитів центральної зони та балонна дистрофія гепатоцитів центральної зони, що є ознакою передстадії некрозу. Для підтвердження типу дистрофії необхідно застосувати специфічне забарвлення зрізів.

4.2.1 Патолофізіологічні механізми запалення при гіпертиреозі та гіпотиреозі. Ознаки хронічного неспецифічного запалення в усіх досліджених органах були представлені помірною осередковою інфільтрацією інтерстицію лімфоцитами, плазмоцитами, гістіоцитами; помірним периваскулярним набряком; дифузною еозинофільною інфільтрацією слизового шару матки, лоханки нирок; наявністю у всіх шарах

фіброblastів; помірною гніздовою лімфоїдною інфільтрацією підслизового шару сечовивідних шляхів із формуванням лімфоїдного фолікула у стромі кіркового шару нирок; лімфогістіоцитарною інфільтрацією порталних трактів і синусоїдів; збільшенням кількості дрібних клітин з темним однорідним ядром (pit-клітини); вираженою гіперплазією клітин Купфера як по периферії часточки, так і в центральній частині. Також відзначалося відкладення волокон колагену в підслизовому шарі лоханки у вигляді смуг, і колагену й еластичних волокон периваскулярно, колагену в підслизовому шарі сечовивідних шляхів, що разом із запаленням є проявом хронізації цього процесу.

Хронічне ушкодження печінки негативно позначається на реакції загоєння ран печінки, з надмірним відкладенням ЕСМ, що призводить до органного фіброзу та втрати функції печінки [119–121]. При фіброзі печінки під первинний вплив потрапляють зірчасті клітини печінки (ЗКП), які відповідають за відкладення ЕСМ [122]. Цитокін-опосередкована активація ЗКП у міофіброblastи є ключовим моментом у фіброгенезі печінки [123]. Є дані, які свідчать про те, що фіброз печінки зумовлений складною сіткою цитокінів, головними з яких є трансформуючий фактор росту $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$) і фактор росту сполучної тканини (CTGF) [120, 121, 123]. Після ушкодження печінки паренхіматозні клітини (гепатоцитів) і мезенхімальні клітини (клітини Купфера, ендотеліальні клітини, pit-клітини, ЗКП) вивільняють цитокіни, які беруть участь в активації ЗКП і синтезі ЕСМ [122, 123]. Висока концентрація TGF- $\beta 1$ часто трапляється при фіброзі печінки. Вивільнення TGF- $\beta 1$ некротично зміненими гепатоцитами може бути одним з перших сигналів для активації суміжних ЗКП, що призводить до їх трансдиференціювання в проліферативні, фіброгенні та скоротливі міофіброblastи. Тому TGF- $\beta 1$ вважається головним цитокіном у фіброгенезі печінки [121, 124, 125]. Цей фактор діє через різні сигнальні шляхи, найбільш важливим з яких є Smad шлях [122, 126]. Smad-білки діляться на три функціональних класи: такі, що регулюють рецептори (Smad 1, 2, 3, 5 і 8), загальний посередник (Co-Smad4) та інгібітор (Smads 6 і 7) [125, 126]. TGF- $\beta 1$ діє через трансмембранні рецептори,

які стимулюють цитоплазматичні Smad-білки, модулюючи транскрипцію генів-мішеней, у тому числі проколагену-I і -III [127]. Порушення взаємодії TGF- β /Smad, в основному через втрату Smad3 або збільшена Smad7 експресії, призводить до резистивності до фіброзу тканин у багатьох органах [125–128].

Посередником ефектів TGF- β 1 на фібробласти є CTGF [121]. Відзначена надмірна експресія CTGF при фіброзі / цирозі печінки різної етіології та при експериментальному фіброгенезі печінки [129]. Це є однією з основних ланок фіброгенного сигналу з TGF- β 1-залежною активністю, коли TGF- β 1 продукується в гепатоцитах, і TGF- β 1-незалежною активності, коли отриманий з ЗКП [125, 130, 131].

Хронічні та повторні запалення в печінці призводять до фіброзу та цирозу печінки [120, 121, 124]. Добре відомо, що запалення є важливим елементом в ініціації та прогресуванні фіброзу печінки. Хронічне запалення тканини печінки супроводжується активацією прозапальних і хемотаксичних медіаторів, включаючи TGF- β 1, TNF- α , IL-6, IL-8 і MCP-1, які активують ЗКП, що є основним джерелом фібрилярного колагену (тип I, III і IV) та інших матричних білків, які нагромаджуються при хронічних захворюваннях печінки [132–134]. Smad3 був визначений як основний медіатор фіброгенної реакції в ЗКП, особливо в індукції експресії колагену [130, 134]. Вплив Smad7 є дуже ефективним у пригніченні ефекту TGF- β 1. Він був використаний, щоб запобігти розвитку фіброзу при хронічних захворюваннях печінки, нирок, легень і шкіри [8, 121, 124].

Механізми, які роблять внесок у збільшення кількості міофібробластів при фіброзі включають: 1) мітоз фібробластів тканини та їх фенотипічне перетворення на профібриноцитичні міофібробласти [135]; 2) змінення диференціювання стовбурових клітин або дедиференціації інших типів клітин у фібробласти [136]; 3) активацію та міграцію стромальних клітин, перицитів, зокрема, при фіброзі нирок [137]; 4) перетворення епітеліальних або ендотеліальних клітин у фібробласти за допомогою епітеліально-

мезенхімальних змін; 5) надходження циркулюючих фіброцитів кістковомозкового походження в місцях запалення [138, 139].

При аналізі якісного характеру адаптивних змін на рівні клітин-мішеней та їх клітинних елементів основними патофізіологічними механізмами очевидно є гіпоксія та хронічне запалення. Залежно від тривалості альтеруючого впливу, інтенсивності гемодинамічних порушень і змін у гомеостазі відбувається структурна перебудова ендотелію. Залежно від ступеня цих адаптаційних змін реалізуються або саногенетичні, або патогенетичні аспекти ремоделювання, які є невід’ємними один від одного. Виходячи з цього, важливим є визначення, коли саме патологічні зміни набувають необоротного характеру і стають причиною вираженої дисфункції з боку відповідного системокомплексу. Як показали наші спостереження, наявність загальних змін саме по собі не є причиною дезадаптації. Навпаки, це є проявом адаптаційного процесу в умовах зміненої ендокринної регуляції. Однак при переважанні фіброзу і некробіотичних змін адаптаційні резерви організму вичерпуються і ступінь цих змін тісно корелює з інтенсивністю системних зрушень у гомеостазі та на рівні регуляторної осі гіпоталамус – гіпофіз – ЩЗ – статеві залози. Незважаючи на подібні патоморфологічні зміни в організмі самиць і самців щурів, наявність гендерспецифічних реакцій дозволяє розглядати патологічні процеси у вигляді гіпер- та гіпотиреозу як одні з найважливіших не лише у детермінації репродуктивної функції, але і при прогнозуванні перебігу синтропної патології. Не можна виключити, що за наявності патологічних змін на рівні гонад і репродуктивної системи в цілому швидкість розвитку декомпенсації при тиреоїдному статусі неодмінно зростатиме. Одним з ймовірних механізмів такого швидкого вичерпання адаптаційних резервів може бути зменшення щільності ТР. Перспективним напрямом у використанні виявлених патофізіологічних закономірностей є клінічна медицина, зокрема репродуктологія, адрологія акушерство та гінекологія. Ми вважаємо, що моніторинг гормонального профілю при зміні фертильності не повинен мати одноразового характеру, а бути системним у вигляді контролю в динаміці.

Використані патофізіологічні моделі гіпер- та гіпотиреозу виявилися інформативними не лише для реалізування гендерної специфіки змін у синтезі статевих стероїдів.

4.2.2 Патофізіологічні механізми розвитку артеріальної гіпертензії під впливом гіпертиреозу та гіпотиреозу. Ознаки, найбільш характерні для артеріальної гіпертензії, були представлені нерівномірним спазмом артеріол в інтерстиції з формуванням ендотелію за типом частоколу у нирках при гіпотиреозі, у матці – при гіпер- та гіпотиреозі; гофрованістю базальної мембрани артерій у серці та нирках при гіпер- та гіпотиреозі, у матці – при гіпотиреозі. Виявлені зміни являють собою результат епізодичного підвищення артеріального тиску [140], що призвело до гіперплазії та гіпертрофії гладком'язових клітин, гіпертрофії стінок артеріол. Ці зміни проявлялися у вигляді потовщення стінок артерій і артеріол з відкладенням еозинофільних гомогенних мас у стінках артеріол у серці, печінці, нирках гіпертиреоїдних і гіпотиреоїдних щурів; потовщення стінок артерій і артеріол за рахунок гіперплазії м'язових клітин відзначалося у нирках і матці при гіпер- та гіпотиреоїдному стані. У зв'язку з періодичними підйомами периферичного опору розвивалася компенсаторна гіпертрофія окремих кардіоміоцитів.

Результатом того, що був наявний різкий і тривалий спазм артеріол, стали осередкові крововиливи у серці, нирках гіпотиреоїдних щурів; наявність ознак старих крововиливів, таких як осередкове відкладення грудочок жовто-коричневого пігменту в інтерстиції міокарда, у порталних трактах і синусоїдах печінки, у цитоплазмі окремих клітин звивистих каналців нирок гіпер- і гіпотиреоїдних груп, у слизовому шарі матки гіпотиреоїдних щурів; відкладення жовто-коричневих гранул у макрофагах міокарда, печінці, нирках, матці щурів обох експериментальних груп; ішемія окремих кардіоміоцитів аж до некрозу. Артеріолосклероз був виявлений у нирках щурів гіпотиреоїдної групи та сім'яниках гіпер- та гіпотиреоїдної, що є типовою ознакою стійкого підвищення артеріального тиску [141].

ТГ чинять як генетичний, так і негенетичний ефект на кардіоміоцити. Дослідження підтвердили, що активна форма ТГ Т3, становить переважну більшість ефектів, включаючи стимуляцію тканинного термогенезу, зміну в експресії різних клітинних білків і дію на серцево-судинні гладком'язові клітини [142, 143]. Геномна дія гормону ЩЗ починається з надходженням Т3 в кардіоміоцити за допомогою специфічних транспортних білків, розташованих у клітинній мембрані [144]. Після цього Т3 проникає в ядро і взаємодіє зі специфічними активаторами транскрипції або репресорами та транскрипційно регулює багато серцевих білків, з яких найбільш вивченими досі є ізоформи міозину важкого ланцюга МНС (альфа і бета). Зміни в експресії МНС у серці відбуваються при різних захворюваннях, включаючи застійну серцеву недостатність. Інший білок, експресія якого модулюється ТГ на рівні транскрипції – це SERCA2, який бере участь у регуляції внутрішньоклітинного кальцію, а саме кальцій-активованої АТФази і його інгібітора фосфоламбану [145].

Деякі порушення серцевої функції при дисфункції ЩЗ безпосередньо відображають ефекти ТГ на кальцій-активовану АТФазу і фосфоламбан, які беруть участь, у першу чергу, в регулюванні концентрації кальцію в кардіоміоцитах [145, 146]. SERCA2 відповідає за швидкість зворотного захоплення кальцію в просвіті саркоплазматичного ретикулула під час діастоли, що є основним чинником, який визначає швидкість релаксації міокарда після скорочення [44]. Тим не менш, продуктивність SERCA2 залежить від рівня експресії фосфоламбану: що вищою є експресія фосфоламбану, то нижча активність SERCA2. Було продемонстровано, що ТГ активують експресію SERCA2 і пригнічують експресію фосфоламбану, тим самим підвищуючи релаксацію міокарда. У фосфоламбан-дефіцитних мишей була підвищена скорочувальна здатність серцевого м'яза [145, 146]. Цей факт показує ключову роль білків саркоплазматичного ретикулула та їх вплив на внутрішньоклітинний метаболізм кальцію при систоло-діастолічних змінах, викликаних ТГ, при дисфункції ЩЗ. ТГ також змінюють експресію інших

іонних каналів, тим самим координуючи функціонування міокарда [147]. Відомо, що ТГ сприяють фосфорилуванню фосфоламбану, і це послаблює його інгібуючу дію на SERCA2 [145, 146].

Гормони ЩЗ також істотно впливають на судинну систему, зменшуючи периферичний судинний опір, сприяючи релаксації гладком'язових клітин судин [148]. Гіпотиреоз вважається захворюванням, яке може призвести до зміни артеріального тиску (АТ), і був визнаний причиною вторинної гіпертензії [149, 150]. Показана висока розповсюдженість систолічної і діастолічної гіпертонії при гіпотиреозі [150–152]. Гіпертонія, викликана гіпотиреозом, пов'язана зі збільшенням периферичного опору, підвищенням артеріальної жорсткості, яка, ймовірно, є результатом мікседеми артеріальної стінки [153], змінами у нирковій гемодинаміці та пов'язана з гормональними змінами [154]. Брадикардія та артеріальна гіпертензія з вузькими пульсовим тиском і злегка збільшеним середнім АТ є характерний при гіпотиреозі [155].

Найбільш послідовною серцевою дисфункцією при гіпотиреозі є порушення діастолічної функції лівого шлуночка (ЛШ), яка характеризується сповільненням релаксації міокарда та порушенням раннього наповнення шлуночків. Систолічна функція ЛШ зазвичай субнормальна, про що свідчить дещо знижене значення фракції викиду й ударного об'єму [154]. Зменшення серцевого переднавантаження у поєднанні з брадикардією і зменшеною скоротливістю призводять до субнормального серцевого викиду при гіпотиреозі. Крім того, явний гіпотиреоз може бути пов'язаний з деяким збільшенням маси ЛШ, що не відповідає гіпертрофії, а швидше, інтерстиціальній мікседемі. За рахунок збільшення жорсткості стін, серцева мікседема сприяє подальшому зниженню серцевого викиду.

Збільшення периферичного судинного опору при гіпотиреозі пов'язано зі звуженням периферичних судин і підвищенням жорсткості артерій [156, 157]. Швидкість клубочкової фільтрації скорочується внаслідок зниженого серцевого викиду, викликаного гіпонатріємією розведення, що є найбільш поширеним розладом електролітів при гіпотиреозі [154, 158]. Гіпотиреоз – це стан з

низьким вмістом реніну, пов'язаним зі зниження ниркової бета-адренергічної активності [155, 159]. При гіпотиреозі присутній об'ємно-залежний механізм підвищення АТ з низькою активність реніну плазми. Також внутрішньосудинний об'єм крові і маса еритроцитів можуть бути зменшеними при гіпотиреозі. У гіпотиреодному стані щільність альфа-1 адренорецепторів збільшується, а щільність бета-адренорецепторів знижується [160]. Це спричиняє збільшення скоротливості гладких м'язів, що призводить до звуження судин. Рівень вазопресину плазми також підвищений у гіпотиреодному стані, що свідчить про можливу роль у затримці натрієм води. Розбіжність рівнів вазопресину, натрію сироватки й осмолярності може бути результатом зниженого порога осморорецепторів гіпоталамуса або ниркової нечутливості до гормону [161].

Т3 також має судинорозширювальну дію на артеріоли, яка опосередкована прямим впливом на клітини гладком'язових клітин судин, що сприяє релаксації за рахунок стимуляції β_2 -рецепторів [159]. У зв'язку з цим показана наявність експресії D типу II у клітинах периферичних судин [162]. Отже, припускається, що периферичне перетворення Т3 з Т4 може сприяти регуляції судинного тонуусу в нормальних і патофізіологічних умовах.

Симпатоадреналова стимуляція при гіпотиреозі може сприяти підтримці рівня АТ і протидіяти зниженню інотропії міокарда та серцевого викиду [163]. При гіпотиреозі спостерігається відносно підвищення рівня кортизолу та альдостерону. Компенсаторні порушення функції кори надниркових залоз можуть бути важливими при гіпотиреозі, зважаючи на гемодинамічні ефекти стероїдів, які можуть допомогти у збереженні серцевого викиду шляхом підтримання об'єму крові та серцевого переднавантаження.

Гіпертиреоз пов'язаний із систолічною гіпертензією шляхом збільшення об'єму циркулюючої крові, підвищенням ударного об'єму (серцевого викиду) і помітним зниженням периферичного судинного опору та пульсового тиску, що призводить до класичного гіпердинамічного серцево-судинного стану.

Систолічна гіпертензія призводить до зниження системного судинного опору (розширення резистивних артеріол), збільшення об'єму крові (еритропоетин) і венозного повернення до серця (збільшення переднавантаження), що викликає підвищення частоти серцевих скорочень і серцевого викиду та зростання систолічного артеріального та пульсового тиску. Ізольована систолічна гіпертензія ($\geq 140 / < 90$ мм рт. ст.) є найбільш розповсюдженою формою гіпертонії [164]. Систолічний артеріальний тиск майже завжди збільшений, а діастолічний – знижений при гіпертиреозі, так що пульсовий тиск є характерно широким і середній артеріальний тиск лише незначно знижений [165]. Збільшення діастолічного АТ є рідкісним при гіпертиреозі через зниження системного судинного опору [165]. Пульсовий тиск є широким, а середній АТ лише незначно зменшується.

При гіпертиреозі під впливом підвищеного рівня ТГ відбувається розширення артеріол, що знижує системний судинний опір. Це зниження системного судинного опору стимулює вивільнення реніну та реабсорбцію натрію, що призводить до збільшення об'єму крові й підвищення венозного повернення до серця [165, 166]. Крім того, ТГ посилюють секрецію еритропоетину і, у свою чергу, еритроцитарної маси, що також може сприяти збільшенню загального об'єму крові. Частота серцевих скорочень і серцевий викид значно збільшуються при гіпертиреозі [165]. Високий серцевий викид є результатом прискореного серцевого ритму та збільшеного ударного об'єму, що, у свою чергу, пов'язане з нормальним або незначно збільшеним кінцево-діастолічним розміром лівого шлуночка і нормальним або незначно зниженим кінцево-систолічним розміром лівого шлуночка.

Можна припустити, що помітно вища частота серцевих скорочень при гіпертиреозі є фактичним збільшенням переднавантаження серця, що призводить до недооцінки ступеня, в якому механізм Франка–Старлінг сприяє поліпшенню роботи серця [163].

Механізми гіпертонії, які пов'язані з гіпертиреозом, є в основному гормональними. Підвищення секреції реніну та еритропоетину викликає

збільшення об'єму крові. Рівні передсердного натрійуретичного пептиду, мозкового натрійуретичного пептиду, ендотеліну-1 і адреномедуліну збільшуються, тимчасом як рівень катехоламінів є нормальним або зменшеним при гіпертиреозі [152, 159].

Є свідчення, що ренін-ангіотензин-альдостеронова система активується при дисфункції ЩЗ. Сумарним ефектом цих гемодинамічних змін є зростання систолічного АТ і збільшення пульсового тиску [165]. При гіпертиреозі збільшення вивільнення реніну є вторинним стосовно гормонозалежного зниження системного судинного опору, що може стимулювати ангіотензин-альдостероновий механізм і, отже, реабсорбцію натрію [150]. Підвищений вміст ТГ активує симпатичну нервову систему [150], збільшує активність ангіотензиногену і передсердного натрійуретичного пептиду [163] і, відповідно, знижує рівень вазопресину [167].

Таким чином, незважаючи на відмінності у патогенетичних механізмах розвитку артеріальної гіпертензії при різному тиреоїдному статусі, одним з основних альтеруючих факторів є зміна серцевого викиду та, відповідно, перфузії. Втім, при гіпотиреозі відбувається зменшення частоти серцевих скорочень (ЧСС) і серцевого викиду та, як наслідок, підвищується діастолічний АТ. Натомість, при гіпертиреозі збільшуються ЧСС та серцевий викид, маніфестує переважно ізольована систолічна артеріальна гіпертензія з низьким (нормальним) діастолічним АТ.

4.2.3 Атрофічні зміни статевих залоз самців. У сім'яниках були виявлені ознаки початкової атрофії, такі як зменшення кількості сперматогенного епітелію, нерівномірно зменшена кількість сперматозоїдів у канальцях, у частині канальців сім'яників гіпотиреоїдних самців сперматиди нечисленні. Тільки у гіпотиреоїдних самців були виявлені ознаки початкової атрофії сперматогенезу: стадія формування характеризується меншою кількістю звивистих канальців; сперматозоїди, що формуються, виявляються на поверхні суспендоцитів не тільки у середній частині адлюмінального шару, а нерідко опускаються і до нижнього рівня

адлюмінального компартменту; серед сперматогоній переважають темні (резервні) клітини, тим часом як кількість світлих (що діляться) зменшена; у частині каналців (не більше $\frac{1}{4}$ від загальної кількості) сім'яників відсутні сперматозоїди та сперматогенний епітелій представлений лише до сперматоцитів першого порядку, сперматиди не представлені, також більшість звивистих каналців сім'яників не містять у своєму просвіті зрілих сперматозоїдів, що є проявом атрофії сперматогенезу і морфологічним еквівалентом азооспермії. Спостерігалось зниження кількості сперматид і сперматозоїдів у гіпотиреоїдній групі у 5,7 разу у порівнянні з контролем ($p < 0,001$), у гіпертиреоїдній групі – удвічі ($p < 0,001$).

Відомо, що Т3 регулює ріст гонад, контролюючи проліферацію і диференціацію клітин Сертолі і Лейдига протягом усього періоду розвитку яєчок [168–170]. Впливу ТГ на розвиток і функціонування сім'яників стали приділяти більше уваги після повідомлення про наявність у великій кількості функціонуючих рецепторів ТГ (TR 1 і TR β 1) у клітинах Сертолі у новонароджених [171]. Це відкриття змінило класичне уявлення про сім'яники як про органи, нечутливі до впливу ТГ. У деяких наукових роботах зазначено, що активна TR 1 ізоформа експресується по-різному в процесі розвитку людини і щурів, також як і те, що TR β 1 ізоформа відсутня в яєчках цих видів [171, 172]. Максимальний рівень експресії TR 1 у клітинах Сертолі, виявлений в ембріональному та ранньому неонатальному періоді, підтверджує той факт, що ці клітини є основною метою впливу Т3 на яєчка [169]. Наявність рецепторів ТГ у гонадах людини і щурів протягом усього періоду розвитку свідчить, що Т3 може впливати на цей орган за класичним генетичним механізмом. Аналіз літератури показує, що порушений тиреоїдний статус, створений експериментально або такий, що виник у дорослого індивідуума, часто асоціюють зі статевою дисфункцією, розладом сперматогенезу (нормальний вміст сперматозоїдів, але низька їх рухливість у деяких випадках) [168], і морфологічною дегенерацією сім'яників [170, 173]. Описано також, що транзиторний гіпотиреоз і гіпертиреоз призводить до відхилень у

характеристиці сперми (в основному, порушення рухливості), які в подальшому приходять в норму при відновленні еутиреозу [173]. Ці прояви пов'язують з тим, що яєчка дорослих щурів позбавлені ТЗ-зв'язувальної активності та $\alpha 1$, $\beta 1$ і $\beta 2$ ізоформ мРНК, хоча експресують $\alpha 2$ мРНК. Однак у роботі [171] було показано, що ТЗ специфічно зв'язується з високим ступенем спорідненості з ядрами, ізольованими з клітин Сертолі культури незрілих щурів. Після цього було продемонстровано, що в ядрах клітин Сертолі знаходиться основна кількість рецепторів, яка змінюється під час статевого розвитку, будучи максимально вираженою у плода і в ранньому постнатальному періоді, значно знижується протягом усього препубертатного періоду і практично відсутня у дорослих [168, 171]. Яєчка дорослого експресують тільки негормонозв'язувальні ізоформи $\alpha 2$ [174]. Ембріональні та інтерстиціальні клітини позбавлені помітної ТЗ-зв'язувальної активності. Це підтверджує припущення про те, що основна точка дії гормонів ЩЗ в яєчках – це соматичні клітини в епітелію сім'яника. Враховуючи екологічну обстановку, високу частоту захворювань ЩЗ, наявність зв'язку між впливом зміненого вмісту гормонів ЩЗ, сперматогенезом, їх морфологічним проявом, особливої актуальності набувають стани, що характеризуються стійким порушенням тиреоїдного статусу організму. Сьогодні залишаються невирішеними питання щодо патогенетичної моделі впливу ТГ на морфологію тканини і функцію яєчок, оскільки класичний генетичний механізм не може пояснити те, що кількість функціонуючих рецепторів ТГ варіює в різних тканинах і на різних етапах розвитку організму.

Можна припустити, що чутливість сім'яників до впливу гормонів ЩЗ має певні особливості. По-перше, розвиток сім'яників у щурів супроводжується експресією виключно $\alpha 1$ -ізоформи рецепторів [169, 171, 172]. По-друге, сім'яники можуть реагувати на вплив ТГ тільки протягом обмеженого часу, який збігається з перинатальним періодом і препубертатним віком [170, 171, 174]. Відсутність порушень чоловічих статевих залоз при гіпер- і гіпотиреозі в більш зрілому віці може бути пов'язане зі здатністю до експресії тільки

негормонозв'язувальної ізоформи. Наслідком вищенаведеного є ще той факт, що результатом впливу експериментального гіпотиреозу на морфофункціональний стан сім'яників щурів стало різке зниження кількості зрілих сперматозоїдів, збільшення кількості каналців зі злущеним епітелієм, різко виражений інтерстиціальний набряк. Під впливом експериментального гіпертиреозу також відзначалися ознаки впливу підвищеного вмісту ТГ на сперматогенного клітини, але в порівнянні з групою гіпотиреоїдних тварин спостерігалось збільшення кількості шарів сперматогенного епітелію і кількості сперматозоїдів, що формуються, у звивистих каналцях сім'яників щурів, інтерстиціальний набряк виражений більшою мірою порівняно з даними групи гіпотиреозу. Проведені експериментальні дослідження виявили морфологічні зміни сім'яників, характерні для впливу ТГ. Оскільки дослідження проводили на дорослих особинах, у яких генетичний механізм може бути виключений, отримані зміни тканини свідчать про наявність невідомого епігенетичного впливу ТГ, що і зумовлює цілі подальших досліджень.

4.2.4 Патоморфологічні механізми формування гіпертрофії міокарду при гіпертиреозі та гіпотиреозі. Нерівномірна гіпертрофія окремих робочих кардіоміоцитів виявляється в 8 разів частіше у гіпотиреоїдних самиць і в 3,5 рази частіше у гіпотиреоїдних самців, ніж у гіпертиреозидних тварин.

Для кількісного підтвердження розвитку гіпертрофії міокарда визначали середній розмір кардіоміоцитів. Діаметр кардіоміоцитів у гіпертиреозидній групі був збільшений у 1,22 разу у самиць та у 1,15 разу у самців порівняно з контролем. У гіпотиреоїдних тварин був відмічений збільшений діаметр кардіоміоцитів у порівнянні з контролем: у самиць у 1,38 разу, у самців – у 1,34 разу.

ТГ сприяє зростанню і диференціації клітин, контролюють клітинні функції і обмін речовин, ріст та форму клітин і клітинну відповідь на стрес з використанням різних внутрішньоклітинних сигнальних шляхів [175]. Зміни у

взаємодії ТГ – ТР відбуваються під час ремоделювання серця і пов'язані з серцевою дисфункцією.

ТГ впливають на ремоделювання серця [11, 175, 176]. Численні зміни в експресії більшості відомих рецепторів міокарда (адренергічні, ангіотензин II, мускаринові, альдостерон, тироксин, і глюкокортикоїдні рецептори), а також зміни у функціонуванні відповідних провідних каналів відбуваються при ремоделюванні, як під час компенсації, так і при недостатності.

Гіпертрофія серця може розглядатися як єдиний процес, що неминуче веде до дисфункції міокарда (патологічної гіпертрофії). Тим не менш, існує фізіологічна гіпертрофія серця, коли функція зберігається або підвищується. Це спостерігається при нормальному розвитку організму, тренуваннях і під гормональним впливом [176, 177].

Гени, чутливі до ТГ, включають *MHC* і *SERCA2*, які індуюються ТГ, та β -*MHC*, які репресуються під впливом ТГ [159]. Патологічна гіпертрофія характеризується змінами у цих генах-мішенях як при гіпотиреозі: зменшення α -*MHC* і *SERCA2* і збільшення β -*MHC*. Цей молекулярний фенотип також називають фетальним. Фізіологічна гіпертрофія, викликана фізичними вправами, характеризується змінами в ТГ-залежних генах-мішенях, як при гіпертиреозі, та не супроводжується підвищенням рівня ТГ у крові [168]. Тільки гіпертрофія серця при нормальному розвитку супроводжується змінами в ТГ-чутливих генах з чітко зміненим рівнем ТГ [179]. Був знайдений прямий зв'язок між рівнем ТР і транскрипцією ТГ-чутливих генів у різних типах гіпертрофії. Усі ТР були пригнічені при перевантаженні тиском при моделюванні патологічної гіпертрофії з молекулярним фенотипом гіпотиреозу. Навпаки, ТР β 1 була активована у моделі фізіологічної гіпертрофії. Ці результати припускають, що різні типи гіпертрофії можуть бути частково викликані зміненими рівнями ТР. Конкретний механізм зміни рівня ТР може відрізнятися у різних видів або моделях, але дослідження свідчать про те, що інгібування ТР являє собою гіпотиреозоподібний механізм сигналізації при патологічній гіпертрофії.

ТР-підвищена регуляція була помічена у моделі фізіологічної гіпертрофії, викликаній навантаженням [180], що призвело до збільшення ТР β 1, але не спричинило ніяких змін у ТР α . У культурі клітин Т3 також викликає селективну індукцію ТР β 1 і так само спричиняє фізіологічну гіпертрофію *in vivo* [176]. У міоцитах ТР β 1 відрізняється від ТР α 1 при індукції Т3, а також за функцією. На ізольованих міоцитах показано, що ТР β 1 індукує SERCA2 і репресує β -МНС, тимчасом як ТР α 1 збільшує α -МНС і вміст білка. Окремі ефекти ізоформ ТР можна пояснити ізоформ-специфічною взаємодією з кофакторами або різною спорідненістю з TRE.

Зміни у рівні ТР можна пояснити, принаймні частково гіпо- і гіпертиреоїдноподібною транскрипцією при різних типах гіпертрофії. ТГ сигналювання порушується при патологічній гіпертрофії та посилюється при фізіологічній гіпертрофії [179].

Багато нервових і гормональних стимулів залучено до гіпертрофії серцевого м'яза, в тому числі, α - і β -адренергічні агоністи, ангіотензин II (ANG II), глюкокортикоїди, інсулін, гормон росту, глюкагон і Т4 [181, 182], але не обмежуються ними. Механізми гіпертрофії серця, викликані підвищенням Т4, включають пряму дію гормону на серце і непрямі ефекти, пов'язані зі стимуляцією адренергічної нервової системи або зміненням навантаження шлуночка. Зниження системного судинного опору і подальше збільшення роботи серця викликані Т4-індукованою гіпертрофією [182, 183].

Добре відомо, що підвищення гемодинамічних параметрів, викликаних активованою симпатичною нервовою системою (СНС), є важливим чинником у гіпертрофії серця, індукованої гіпертиреозом [159]. Клінічні ознаки гіпертиреозу, такі як збільшення частоти серцевих скорочень, серцевого викиду і підвищення скорочувальної здатності міокарда, приводять до висновку, що гіпертиреоз є гіперадренергічним станом.

Показано, що гіпертрофія серця, індукована гіпертиреозом, пов'язана не тільки зі зростанням активності симпатичної нервової системи та з підвищенням артеріального тиску [184]. ТГ підвищують поглинання кальцію

серцем, збільшуючи скоротливість міокарда. Виявлено, що ТГ підвищують регуляцію експресії генів міозину важкого ланцюга [185]. Інсуліноподібний фактор росту I викликає гіпертрофію серця, а також ендокринні та паракринні серцеві ефекти при гіпертиреозі [186]. ANG II збільшує внутрішньоклітинну концентрацію кальцію через потенціал-залежні і рецептор-залежні кальцієві канали [187] і підсилює експресію генів міозину важкого ланцюга в серці і інсулін-подібний фактор росту I мРНК [188].

Гіпертрофія серця, викликана гормонами ЩЗ, супроводжується активацією ренін-ангіотензинової системи (РАС), включаючи збільшення серцевого реніну, ангіотензину II і експресії мРНК реніну, що призводить до гіпертрофії серця [189]. Показано, що збільшення серцевого реніну спостерігається при гіпертиреозі внаслідок локального збільшення серцевої продукції реніну [190]. ТГ активують циркулюючу і тканинну РАС без участі симпатичної нервової системи (СНС). Це може бути причиною гіпертрофії серця при гіпертиреозі [182, 191]. У цих умовах гормони ЩЗ безпосередньо стимулюють мРНК реніну [182, 190], збільшують синтез і секрецію ангіотензиногену і ANG II рецепторів [192]. Проте при гіпотиреозі, індукованому тиреоїдектомією, виявлено зниження активності реніну плазми. Ці результати показують, що гіпертиреоз-індукована гіпертрофія серця може бути залучена до зміни циркулюючої РАС або активності СНС. Деякі дослідження показали, що активація серцевої РАС сприяє розвитку гіпертрофії серця шляхом посилення експресії мРНК SERCA2 [193].

Встановлено, що гіпертиреоз пов'язаний з підвищеною щільності β -рецепторів серця [182]. Показано підвищення експресії мРНК β 1-адренергічних рецепторів у відповідь на введення тироксину [11]. Відзначено значне зменшення серцевої гіпертрофії при блокуванні β -адренергічної системи при гіпертиреозі [11]. Ці дані не узгоджуються з тими, які повідомляють, що адренергічна стимуляція не є необхідною при Т4-індукованій гіпертрофії [182].

Дослідження показують, що гормони ЩЗ можуть моделювати активність цих медіаторів за допомогою активації РАС. Активація серцевої РАС може

бути першим кроком у механізмі незалежному від СНС, що призводить до гіпертрофії серця, індукованої гіпертиреозом.

Відомо, що ТР функціонують не тільки як транскрипційно активні білки, вони також беруть участь у цитоплазматичних процесах сигналювання [65, 194]. ТР є похідними від двох генів, у результаті альтернативного сплайсингу утворюються чотири Т3-зв'язувальні ізоформи рецепторів, з яких ТР α 1 і ТР β 1 переважають у кардіоміоцитах, а ТР α 1 експресується як у ядрі, так і в цитозолі [195]. Т3-залежна ТР-опосередкована активація фосфатидилінозитол 3'-кіназа (PI3K) в ендотеліальних клітинах людини та пряма взаємодія з ТР α 1 р85 α регуляторною субодиницею PI3K призводять до Akt фосфорилювання та активації ендотеліальної синтази оксиду азоту.

Аналогічна ТГ-залежна ТР-опосередкована активація PI3K була описана в інших типах клітин, включаючи фібробласти людини [196], клітини гіпофіза [197] і кардіоміоцити [11]. В експериментальних дослідженнях на тваринах показано збільшення фосфорилювання Akt, S6 кінази (p70S6K) і mTOR в гіпертрофованому серці щурів, яким вводили Т4 [198]. На підставі цих спостережень позаядерного сигнального механізму дії ТГ та ТР пропонується потенційний механізм, за допомогою якого цей гормон викликає гіпертрофію кардіоміоцитів, що не залежить від їх регуляторного впливу на експресію генів. У дослідженнях на культурі кардіоміоцитів щура було показано, що інгібітором PI3K, вортманіном, заблокували Т3-стимульований синтез білка і запобігли Т3-індукованій гіпертрофії міоцитів [11]. Ця відповідь була ініційована Т3-залежною активацією PI3K через пряму взаємодію білок-білок цитозольного ТР α 1 і PI3K. Т3 призводить до фосфорилювання Akt і подальшого фосфорилювання mTOR у Akt сигнальному шляху. Введення Т3 у культуру кардіоміоцитів призводить до фосфорилювання S6K (p70S6K), а потім – до стійкого фосфорилювання рибосомального білка S6 і підвищення фосфорилювання 4E-BP1. Ці ефекти були заблоковані інгібіторами PI3K і mTOR, підтверджуючи роль PI3K-Akt-mTOR сигнального шляху в Т3-індукованій гіпертрофії кардіоміоцитів.

При фізіологічній гіпертрофії Т3 зв'язується з цитоплазматичними $TR\alpha 1$ або факторами росту, пов'язаними з рецептором протеїнкінази тирозину (RPTK), активуючи ізоформу p110 α PI3K шляхом прямої взаємодії з p85 субодиницею PI3K. p110 α фосфорилує фосфатидилінозитол PIP2 у положенні 3', щоб виправити PIP3, який служить для зв'язування фосфатидилінозитол-залежної кінази (PDK1) і Akt, що дозволяє PDK1 фосфорилувати Akt. Активація Akt призводить до активації mTOR, який регулює синтез білків, включаючи S6 кіназу (p70S6K) і фактор ініціації eIF4E зв'язувальний білок (4E-BP1), що викликає збільшення темпів трансляції білків і біосинтезу рибосом, що призводить до гіпертрофії кардіоміоцитів. Akt і S6K також фосфорилуються та інгібують синтез глікогенкінази (GSK3 β), тим самим сприяючи гіпертрофії серця. На відміну від патологічних агоністів гіпертрофії (ангіотензин, катехоламіни), що діють через рецептори G-білка (GPCR), Gq активують Akt / mTOR шлях, зв'язуючись з p110 γ ізоформою PI3K.

Т3 активує PI3K/Akt/mTOR сигнальний шлях, починаючи зі зв'язування з цитоплазматичними рецепторами гормонів ЩЗ ($TR\alpha 1$ і $TR\beta 1$), що призводить до збільшення синтезу білка й активації генів програми гіпертрофії. В ендотеліальних клітинах Т4 зв'язується з інтегринрецепторами плазматичної мембрани ($\alpha V\beta 3$) і може активувати MAPK ERK1 / 2 сигнального шляху, що призводить до фосфорилювання $TR\beta 1$ і/або транслокації в ядро, де підсилюється його транскрипційна активність. Крім того, Т3 може входити безпосередньо в ядро практично всіх клітин і зв'язуватися з ядерними TR, які регулюють експресію генів-мішеней, що збільшують скорочувальну спроможність серцевого м'яза, стимулюють ангіогенез, регулюють клітинний метаболізм і забезпечують цитопротекцію [199].

4.2.5 Фіброзні зміни тканин при гіпер- і гіпотиреозі. Фіброзні зміни в досліджуваних органах були представлені периваскулярною колагенізацією при гіпертиреозі та вираженим відкладенням колагенових волокон периваскулярно і дифузно в міокарді у гіпотиреоїдній групі. Початкові фіброзні зміни в печінці гіпотиреоїдних щурів представлені

помірною колагенізацією окремих центральних вен; формуванням неповних порто-портальних сполучнотканинних септ як ознаки неповного септального цирозу печінки; поодинокими колагеновими фібрилами в синусоїдах як проявом несприятливого фіброзу печінки з ранньою печінково-клітинною недостатністю і ранньою вираженою портальною гіпертензією. У гіпертиреоїдних щурів фіброзні зміни значно виражені: дифузний, периваскулярний, перивенулярний фіброз у портальних трактах, різкий фіброз з формуванням хибних часточок як ознаки неповного септального цирозу печінки. Про фіброзні зміни у матці обох експериментальних груп свідчать такі ознаки: наявність ніжних тонких волокон колагену в підслизовому і субсерозному шарі та в інтерстиції брижі, відкладення волокон колагену під мезотелієм у вигляді смуг, помірний склероз і відкладення волокон колагену в слизовому шарі, осередкове відкладення волокон колагену в інтерстиції; проникнення колагенових волокон між гладком'язовими клітинами та між м'язовими пучками свідчить про розповсюдження фіброзу, а визрівання грануляційної тканини з ніжною сіткою колагенових волокон у підслизовому шарі є наслідком некрозу та заміщення фокусу сполучною тканиною.

При визначенні об'ємної частки сполучної тканини у печінці гіпертиреоїдних щурів відзначалося підвищення об'єму сполучної тканини у печінці. У нирках гіпертиреоїдної групи були отримані більш значущі фіброзні зміни порівняно з гіпотиреоїдною групою, які характеризувалися підвищенням об'ємної частки сполучної тканини у 2,7 разу ($p < 0,001$) у самиць та у 2,9 разу ($p < 0,001$) у самців порівняно з контролем. У слизовій оболонці матки об'ємна частка сполучної тканини гіпотиреоїдної групи була підвищеною у 1,4 разу ($p < 0,001$), у гіпертиреоїдній групі – утричі ($p < 0,001$) порівняно з контролем. У міокарді щурів групи експериментального гіпертиреозу цей показник переважав значення контролю у 1,98 разу у самиць та у 1,87 разу у самців, у групі гіпотиреозу – у 2,4 разу у самиць та у 2,5 рази у самців.

Виходячи з цих результатів можна зробити висновок, що змінений системний рівень ТГ ініціює морфологічні зміни, більш виражені при

гіпотиреозі у міокарді, нирках, сім'яниках, і при гіпертиреозі у печінці, матці.

4.3 Роль метилування ДНК у розвитку фіброзу органів при гіпертиреозі та гіпотиреозі

При системному стійкому зрушенні гормонів ЩЗ відбувається альтеруючий вплив на органи. Механізми цих змін мають є як генетичний, так і негенетичний характер. Метилування ДНК є найкраще вивченим епігенетичним чинником, який відіграє ключову роль у продукції стабільних змін експресії генів у нормі, таким чином визначаючи особистості клітин, їх функції та адаптуючи клітини до змін навколишнього середовища. Нещодавно була показана роль метилування ДНК у моделюванні клітинної відповіді на фізіологічні ендокринні сигнали. Крім того, зміни нормальної схеми метилування ДНК можуть також сприяти розвитку ендокринних і метаболічних захворювань і пояснити відношення між генетичним фоном людини, навколишнім середовищем і хворобою.

Епігенетичні зміни не тільки несуть відповідальність за нормальний розвиток, але також беруть участь у патогенезі хвороби. Генетичні ушкодження, у тому числі мутації, делеції або поломки, як відомо, призводять до розладів у організмі людини, але є докази, що захворювання також може бути викликане епігенетичними змінами. Зміни у метилуванні ДНК можуть призвести до сайленсингу зазвичай активних генів або активації зазвичай неактивних генів. Однак даних про вивчення впливу метилування на активність фіброгенезу при дисфункції ЩЗ нами не було знайдено. У зв'язку з цим була вивчена активність DNMT на лабораторних тваринах.

При аналізуванні активності DNMT у крові тварин залежно від експериментально створеного стану та від статі щурів нами були виявлені зміни ферментативної активності DNMT (див. рис. 3.1). Отже, ферментативна

активність DNMT підвищувалась як при гіпертиреοїдному стані, так і при гіпотиреозі. Значущої різниці у активності ферменту залежно від статі між експериментальними групами не виявлено.

Даних про дослідження ролі метилування у розвитку фіброзу при дисфункції ЩЗ в опублікованій літературі нами не знайдено. Найбільш близькою галуззю досліджень було визначення зв'язку між мікросомальним і фосфоліпідним метилуванням та розвитком гіпертрофії серця у гіпертиреοїдних щурів [200]. Інформації про дослідження ролі метилування у ремоделюванні тканин при гіпотиреοїдному стані у літературі не знайдено.

При гістологічному дослідженні препаратів серця, печінки, нирок були виявлені фіброзні зміни в досліджуваних органах, виражені більшою мірою у серці при гіпотиреозі та у печінці й нирках – при гіпертиреозі. Одержані результати корелюють з даними інших авторів [42]. У цих дослідженнях показано, що при моделюванні фіброзу печінки ген, пов'язаний з фіброзом, секретує фосфопротеїн 1 (Spr1), який викликає запалення. Цей ген був гіпометильованим, а його експресія – підвищеною. При прогресуванні фіброзу печінки виявлено гіперметилування ДНК. Виходячи з цих результатів, можна зробити висновок, що зниження рівня метилування генів, які відповідають за фіброз, може передувати початку фіброзу печінки або сприяти йому. Таким чином, активність метилування ДНК змінюється від гіпометилування до гіперметилування при прогресуванні фіброзу в печінці. У нашому дослідженні при гіпертиреозі фіброз печінки був максимально вираженим та активність DNMT була підвищеною. Результатом гіпертиреозу та гіпотиреозу у серці, печінці, нирках стали: відкладення волокон колагену й еластичних волокон периваскулярно й осередково в інтерстиції міокарда гіпертиреοїдних щурів та дифузна колагенізація міокарда у гіпотиреοїдних; дифузний, периваскулярний, перивенулярний фіброз у портальних трактах, формування повних порто-портальних сполучнотканинних септ, порто-портальних анастомозів і виражений фіброз з формуванням хибних часточок у печінці тварин з гіпертиреозом; формування неповних і повних портальних сполучнотканинних

септ, поодинокі колагенові фібрили в синусоїдах у печінці гіпотиреоїдних щурів і гіперплазія перисинусоїдальних ліпоцитів клітин Іто в обох експериментальних групах; периваскулярний фіброз, відкладення волокон колагену в підслизовому шарі лоханки у вигляді смуг та в підслизовому шарі сечовивідних шляхів, склероз та звивисті нерівномірної товщини еластичні волокна у стінках артерій, артеріол у нирках гіпертиреоїдних щурів, потовщення базальної мембрани капсули клубочків, тонкі еластичні волокна у стінках артерій та артеріол гіпотиреоїдних тварин.

Це свідчить про регуляторний вплив гормонів ЩЗ на метаболізм колагену у досліджуваних органах. Підтвердження даного припущення ми знайшли у роботах деяких дослідницьких груп, які показують, що рівень ТГ є одним із факторів, який призводить до типового збільшеного нагромадження колагену при гіпотиреозі [11, 12, 42, 199], регулюючи експресію гена на рівні транскрипції [200]. Дослідники відзначають підвищення деградації колагену в яєчниках щурів з гіпотиреозом [10]. Припускається, що ТГ інгібують активність промотора проколагену $\alpha 1$ і знижують біосинтез колагену I при гіпотиреозі [10, 200]. Також показано, що збільшення вмісту колагену в серці не є ефектом прямої стимуляції ТГ на міофібробласти серця [11, 200]. Припускається, що гіпотиреоз запобігає фіброзу печінки у щурів [42], що можна пояснити збільшенням деградації колагену під впливом зменшеного рівня ТГ. У нашому експерименті саме гіпотиреоз вплинув на розвиток вираженого фіброзу у серці. Збільшення вмісту колагену в тканинах щурів з гіпотиреозом, ймовірно, є результатом зменшення катаболізму цього білка.

Численними дослідженнями доведено, що синтез білка залежить від кількості ТГ [11, 42, 104, 118]. При нестачі ТГ синтез білка знижений, при введенні їх в невеликій кількості синтез білка посилюється, а при введенні у великих дозах відбувається різке пригнічення процесу. Наведені дані свідчать про те, що малі дози гормонів ЩЗ спричиняє анаболічну, а великі – катаболічну дію [42]. З вищевикладеного зрозуміло, що посилений синтез білка при легкому перебігу тиреотоксикозу призводить до гіпертрофії міокарда, тимчасом як при

тяжкому тривалому перебігу цей процес пригнічується, дистрофія міокарда прогресує, розвиваються кардіосклероз і серцева недостатність.

В 70-80 % випадках на гіпотиреоз виявляються симптоми ураження серця – гіпотиреоїдна кардіоміопатія [104, 118], в основі якої лежать серйозні порушення обмінних процесів, з дистрофічними змінами в серці, що супроводжуються зниженням інтенсивності окисного фосфорилювання, уповільненням синтезу білка, жировою інфільтрацією м'язових волокон, нагромадженням мукополісахаридів і глікопротеїдів у міокарді, які призводять до слизового набряку міокарда і строми [11, 46, 71, 201–203]. Збільшення об'єму позаклітинної рідини при гіпотиреозі сприяє порушенню дренажної функції лімфатичної системи [11, 46, 202]. Зменшується поглинання кисню міокардом, підвищується проникність клітинних мембран, а отже, виникає електрична нестабільність міокарда, розвивається дефіцит макроергів, відбуваються електролітні зрушення. У тканині серця підвищується вміст натрію і зменшується калію, що призводить до атрофії міофібрил. Збільшується кількість інтерстиціальної рідини, яка, розсовуючи міофібрили, призводить до набряку міокарда, поступового розвитку дистрофії та фіброзу серцевого м'яза [11, 46, 71, 203]. Уражається як скорочувальний міокард, так і строма. В кардіоміоцитах відкладається креатинфосфат і виникає так звана псевдогіпертрофія міокарда [11, 71]. Наявність справжньої гіпертрофії міокарда при гіпотиреозі є дискусійним питанням, тому що застосування замісної гормональної терапії препаратами левотироксину сприяють її регресу.

На підставі літературних даних і власних досліджень на рис. 4.1 представлена ймовірна схема патофізіологічних змін під впливом ТГ.

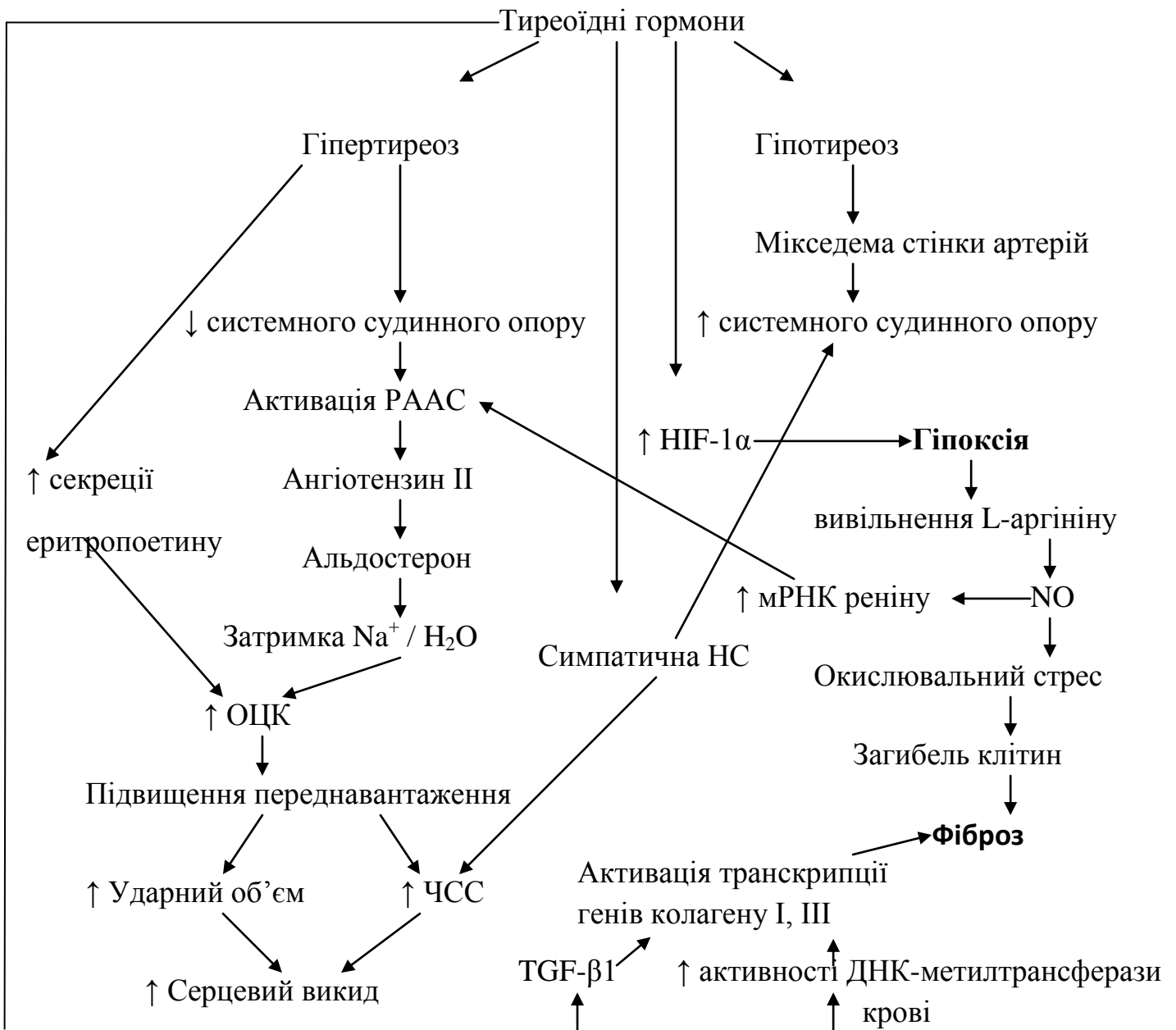


Рис. 4.1 Схема патогенетичних механізмів розвитку виявлених дисфункцій за умов гіпо- та гіпертиреозу

4.4 Маса органів щурів та динаміка маси тіла в експериментальних групах

Результатом впливу гіпертиреозу на масу тіла самців стало набуття маси. Приріст маси тіла у гіпотиреоїдних самців перевищив приріст контрольної

групи самців. Подібна ситуація відмічається і у самиць: приріст маси тіла менший за приріст у інтактній групі при гіпертиреозі та більший – при гіпотиреозі.

Зважування щурів усіх груп протягом всього експерименту дало змогу побачити динаміку приросту маси та порівняти цю ознаку залежно від модельованого патологічного стану та за статтю. Отримані експериментальні дані дали змогу дійти висновку, що гіпертиреоїдний стан призводить до збільшення маси тіла у меншому ступеню за показники маси тіла контрольної групи. Значущих статевих відмінностей у групі гіпертиреозу не було знайдено. Гіпотиреоз у щурів призводить до приросту маси тіла, який переважає значення контрольної групи. Також слід зазначити, що гіпотиреоїдні самці набували масу більше за самиць.

Більш виражений ріст маси органів визначався при гіпертиреозі, який корелює з приростом маси тіла. Маса органів у щурів, які отримували T4 протягом 2 тиж, була вірогідно вищою, ніж у контрольній групі (серце та печінка – $p < 0,05$, нирки – $p < 0,001$ у самців та $p < 0,001$ у самиць).

При гіпотиреозі середня маса органів була нижчою, ніж показник у контролі з високою вірогідністю ($p < 0,001$).

Таким чином, отримані дані свідчать про роль ТГ у патогенезі фіброзу печінки, нирок, міокарда, сім'яників, матки та гіпертрофії міокарда як адаптативні зміни до стійкого системного гіпотиреозу та гіпертиреозу.

Виражені фіброзні зміни виявлені переважно у печінці та нирках щурів при експериментальному гіпертиреозі, у серці – при гіпотиреозі, у матці – при обох патологічних станах. Ознаки початкової атрофії сперматогенного епітелію були визначені у сім'яниках гіпотиреоїдних самців. При цьому цікавим є той факт, що ферментативна активність DNMT вірогідно підвищується при гіпертиреозі ($p < 0,001$) та гіпотиреозі ($p < 0,001$). Наслідком підвищеної ферментативної активності DNMT при гіпертиреозі у печінці стала значна структурна перебудова паренхіми як прояв неповного септального цирозу печінки, у нирках – ознаки, типові для артеріальної гіпертензії та хронізації

процесу запалення. Результатом підвищеної активності DNMT при гіпотиреозі є дифузна колагенізація та виражена периваскулярна колагенізація міокарда у щурів обох статей. При підвищеній активності DNMT виявляються помірний склероз і відкладення волокон колагену в слизовому, підслизовому шарі матки, периваскулярно, під мезотелієм, з проникненням колагенових волокон між гладком'язовими клітинами та між м'язовими пучками. Визначені суттєві зміни у структурі міокарда, печінки, нирок, матки в експериментальних групах з порушеним тиреоїдним статусом асоціювалися із вірогідним підвищенням активності DNMT, що дозволяє визначити його як епігенетичний маркер розвитку фіброзу.

Підсумовуючи все вищевикладене, необхідно зробити висновок, що у механізмі формування фіброзних змін при гіпотиреозі та гіпертиреозі задіяні різні ланки патогенезу.

Розуміння складних механізмів розвитку фіброзних перетворень органів при гіпертиреоїдному та гіпотиреоїдному станах дозволить не лише виявити початкові прояви переходу від адаптативного процесу до декомпенсованого, але і патогенетично обґрунтовано розробляти нові ефективні методи лікування цього грізного ускладнення.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі наведено теоретичне узагальнення і нове експериментальне вирішення актуального наукового завдання, що полягає в з'ясуванні гендерних аспектів патогенезу порушення активності ДНК-метилтрансферази, морфо-функціонального стану органів і тканин, дизрегуляції рівня статевих гормонів за умов гіпертиреозу та гіпотиреозу.

1. Експериментальний гіпер- та гіпотиреоз у щурів обох статей спричиняє патоморфологічні зміни, характерні для артеріальної гіпертензії, а саме: спазм артеріол в інтерстиції нирок; гофрованість базальної мембрани артерій у серці та нирках; гіпертрофію кардіоміоцитів; потовщення стінок артерій і артеріол із гіперплазією м'язових клітин у нирках; потовщення стінок артерій і артеріол серця, печінки, нирок із відкладенням у них еозинофільних гомогенних мас; крововиливи та артеріолосклероз у нирках тварин із гіпотиреозом. У матці за умов гіпер- та гіпотиреозу виявлено спазм артеріол і потовщення їх стінок, а в щурів із гіпотиреозом – відкладення в них еозинофільних гомогенних мас. У сім'яниках тварин обох експериментальних груп визначався артеріолосклероз.

2. При морфометричному дослідженні печінки щурів із експериментальним гіпертиреозом виявлено значне вірогідне підвищення об'ємної частки сполучної тканини у печінці самиць ($2,55 \pm 0,10$ %, $p < 0,001$) та у самців ($2,71 \pm 0,16$ %, $p < 0,001$) порівняно з контролем ($2,01 \pm 0,10$ та $1,98 \pm 0,01$ % відповідно), у нирках – (у самиць – $3,13 \pm 1,09$ %, $p < 0,001$; у самців – $3,32 \pm 0,19$ %, $p < 0,001$ порівняно з контролем ($1,13 \pm 0,07$ та $1,12 \pm 0,01$ % відповідно) та в матці ($4,44 \pm 0,01$ % ($1,48 \pm 0,001$ %), $p < 0,001$), а також периваскулярний фіброз у досліджених органах. За умов експериментального гіпотиреозу вірогідно збільшується об'ємна частка сполучної тканини в міокарді ($3,3 \pm 0,19$ %, $p < 0,001$ у самиць та $3,6 \pm 0,06$ %, $p < 0,001$ у самців) порівняно з контролем ($1,3 \pm 0,01$ та $1,4 \pm 0,05$ % відповідно). Наявні фіброзні зміни суттєвіші в міокарді при гіпотиреозі та в

печінці, нирках, матці – при гіпертиреозі, що свідчить про органоспецифічний вплив нестачі та надлишку ТГ на ініціацію патоморфологічних змін.

3. За умов експериментальної дисфункції щитоподібної залози в щурів відбуваються суттєві зміни сперматогенезу, які проявляються достовірним зниженням кількості сперматид ($166,98 \pm 7,56$ клітин, $p < 0,001$) і сперматозоїдів ($188,5 \pm 6,2$ клітин, $p < 0,001$) при гіпотиреозі порівняно з контролем ($880,83 \pm 80,06$ та $1169,6 \pm 83,39$ клітин відповідно); а також сперматид ($655,6 \pm 63,5$ клітин, $p < 0,001$) та сперматозоїдів ($292,72 \pm 23,56$ клітин, $p < 0,001$) при гіпертиреозі.

4. За умов експериментального гіпотиреозу рівень вільного Т3 у крові самців ($1,380 \pm 0,008$ пмоль/л, $p < 0,001$ порівняно з контролем – $2,790 \pm 0,013$ пмоль/л) знижується вірогідно більш суттєво, ніж у самиць ($0,870 \pm 0,006$ пмоль/л, $p < 0,001$ порівняно з контролем $2,280 \pm 0,008$ пмоль/л). При гіпертиреозі у самців зафіксовано вагомніше вірогідне підвищення рівнів вільного Т3 ($7,02 \pm 0,17$ пмоль/л, $p < 0,001$) та вільного Т4 у крові ($78,38 \pm 7,60$ пмоль/л, $p < 0,001$ порівняно з контролем $21,30 \pm 0,84$ пмоль/л) порівняно з самицями (рівень вільного Т3 – $4,730 \pm 0,002$ пмоль/л, $p < 0,001$; вільного Т4 – $33,82 \pm 8,43$ пмоль/л, $p < 0,001$ порівняно з контролем $17,86 \pm 0,84$ пмоль/л). Ймовірно, що більш виражені гендерспецифічні зміни в самців пояснюються власне дисфункцією регуляторних механізмів при гіпо- та гіпертиреозі, а також більш вираженими біохімічними та патобіохімічними взаємодіями андрогенів і йод-вмісних гормонів щитоподібної залози.

5. Експериментальний гіпертиреоз та гіпотиреоз вірогідно підвищують активність ДНК-метилтрансферази крові самців і самиць ($128,22 \pm 23,60$ та $128,54 \pm 17,10$ ОЩ/год/мг, $p < 0,001$, відповідно, при гіпертиреозі), ($72,57 \pm 8,90$ та $75,48 \pm 7,20$ ОЩ/год/мг, $p < 0,001$, відповідно, при гіпотиреозі) порівняно з контролем ($14,97 \pm 1,14$ та $15,47 \pm 1,10$ ОЩ/год/мг). Більш суттєві ефекти гіпертиреозу щодо активності ДНК-метилтрансферази крові підтверджуються вагомнішими фіброзними змінами печінки, нирок та матки.

6. Результатом впливу гіпотиреозу є вірогідне підвищення рівню естрадіолу ($0,510 \pm 0,035$ нмоль/л, $p < 0,001$) та прогестерону ($100,92 \pm 29,44$ нмоль/л, $p < 0,001$) у крові самиць порівняно з контролем ($0,280 \pm 0,014$ та $54,92 \pm 4,15$ нмоль/л відповідно) і вірогідне зниження рівня тестостерону ($16,40 \pm 1,57$ нмоль/л, $p < 0,05$) у крові самців у порівнянні з контролем ($19,00 \pm 0,77$ нмоль/л). Наслідком гіпертиреозу в самиць є вірогідне підвищення рівня естрадіолу ($0,420 \pm 0,002$ нмоль/л, $p < 0,001$) та прогестерону ($98,18 \pm 20,69$ нмоль/л, $p < 0,05$) крові, у самців – вірогідне зниження рівню тестостерону ($7,14 \pm 0,14$ нмоль/л, $p < 0,001$) у крові порівняно з контролем.

7. Метилування ДНК та зв'язаний з ним перебіг процесів ремоделювання тканин, зокрема, фіброз, викликаний гіпер- та гіпотиреїдним станом, свідчить, що активність ДНК-метилтрансферази крові є маркером розвитку фіброзних змін при зміненому тиреоїдному статусі організму.

ДЖЕРЕЛА ВИКОРИСТАНОЇ ІНФОРМАЦІЇ

1. Стан ендокринологічної служби України в 2007 р. та перспективи розвитку медичної допомоги хворим з ендокринною патологією / З. М. Митник, М. Г. Жданова, З. Г. Крушинська [та ін.] // Міжнародний ендокрин. журнал. – 2008. – № 3 (15). – С. 8–15.
2. Паньків В. І. Поширеність патології щитоподібної залози в йододефіцитних районах Західної України / В. І. Паньків // Ендокринологія. – 2006. – Т. 11, № 11. – С. 134–137.
3. Фадеев В. В. Заболевания щитовидной железы в регионе легкого йодного дефицита: эпидемиология, диагностика, лечение. / В. В. Фадеев – М.: Видар, 2005. – 204 с.
4. Олійник В. А. Патологія щитовидної залози в Україні (епідеміологія та регіональні особливості) / В. А. Олійник // Журнал практичного лікаря. – 2001. – № 2. – С. 5–7.
5. Проблеми інвалідності та реабілітації хворих на гіпотиреоз. Частина 1 / В. С. Вернигородський, О. Б. Яворовенко, Н. М. Фетісова, М. В. Вернигородська // Международный эндокринологический журнал. – 2009. – 3 (21). – С. 36–40.
6. Частота захворювань щитовидної залози в Донецькому регіоні / А. С. Прилуцький, В. П. Касярум, А. А. Бахтиярова [та ін.] // Международный эндокринологический журнал. – 3 (21). – 2009. – С. 15-19.
7. The Thyroid Hormone Receptors as Modulators of Skin Proliferation and Inflammation / C. Contreras-Jurado, L. García-Serrano, M. Gómez-Ferrería [et al.] // J Biol Chem. – 2011. – Vol. 286 (27). P. 24079–24088.
8. Inhibition by curcumin of multiple sites of the transforming growth factor-beta1 signalling pathway ameliorates the progression of liver fibrosis induced by carbon tetrachloride in rats / Qun-yan Yao, Bei-li Xu, Ji-yao Wang [et al.] // BMC Complement Altern Med. – 2012. – Vol. 12 (1). – P. 156.

9. Xing M. Gene methylation in thyroid tumorigenesis / M. Xing // *Endocrinology*. -2007. – Vol. 148 (3). –P. 948-953.
10. Methylation determines fibroblast activation and fibrogenesis in the kidney / W. Bechtel, S. McGoochan, E. M. Zeisberg [et al.] // *Nature Medicine*. -2010. – Vol. 16, № 5. – P. 544-550.
11. Pantos C. New insights into the role of thyroid hormone in cardiac remodeling: time to reconsider? / C. Pantos, I. Mourouzis, D. V. Cokkinos // *Heart Fail Rev*. – 2011. – Vol. 16, №1. – P. 79–96.
12. Krassas G. E. Thyroid Function and Human Reproductive Health / G. E. Krassas, K. Poppe, D. Glinioer // *Endocrine Reviews*. – 2010. – Vol. 31, №5. – P. 702–755.
13. Regulation of gene expression with thyroid hormone in rats with myocardial infarction. / Y. F. Chen, J. V. Pottala, N. Y. Weltman [et al.] // *PLoS One*. – 2012. – Vol. 7, № 8. – e40161.
14. Major genetic influence on the regulation of the pituitary-thyroid axis: a study of healthy Danish twins / P. S. Hansen, T. B. Heiberg, I. A. Thorkild [et al.] // *J. Clin. Endocrinol. Metab*. – 2004. – Vol. 89, № 3. – P. 1181-1187.
15. Hulbert A. J. Thyroid hormones and their effects: a new perspective / A. J. Hulbert // *Biological review of the Cambridge Philosophical Society*. – 2000. – Vol. 75, № 4. – P. 519-531.
16. The growing role of gene methylation on endocrine function. / V. García-Carpizo, L. Ruiz-Llorente, M. Fraga, A. Aranda // *J Mol Endocrinol*. – 2011. – Vol. 47, -№ 2. –P. 75-89.
17. Expression of DNA methyltransferases in the mouse uterus during early pregnancy and susceptibility to dietary folate deficiency / Y. B. Ding, J. L. He, X. Q. Liu [et al.] // *Reproduction*. – 2012. – Vol. 144, № 1. – P. 91-100.
18. Kansagra S. The Challenges and Complexities of Thyroid Hormone Replacement / S. M. Kansagra, C. R. McCudden, M. S. Willis // *Laboratory Medicine*. – 2010. – Vol. 41 (6). – P. 229-348.

19. Zoccali C. Thyroid function and cardiac outcome in kidney failure / C. Zoccali, F. Mallamaci // *Thyroid and Heart Failure*. – 2012. – Clin J Am Soc Nephrol. – Vol. 7. – P. 12-14.
20. Thyroid hormone action at the cellular, genomic and target gene levels / P.M. Yen, S. Ando, X. Feng [et al.] // *Mol Cell Endocrinol*. – 2006. – Vol. 246 (1–2). – P. 121–127.
21. McKenna N. J. Minireview: nuclear receptor coactivators – an update / N. J. McKenna, B. W. O'Malley // *Endocrinology*. – 2002. – Vol. 143 (7). – P. 2461–2465.
22. Impaired Ca²⁺ handling and contraction in cardiomyocytes from mice with a dominant negative thyroid hormone receptor alpha1 / P. Tavi, M. Sjogren, P. K. Lunde [et al.] // *J Mol Cell Cardiol*. – 2005. – Vol. 38. – P. 655–663.
23. Thyroid hormone receptors alpha1 and beta1 are downregulated in the post-infarcted rat heart: consequences on the response to ischaemia–reperfusion / C. Pantos, I. Mourouzis, T. Saranteas [et al.] // *Basic Res Cardiol*. – 2005. – Vol. 100. – P. 422–432.
24. Anxiety, memory impairment, and locomotor dysfunction caused by a mutant thyroid hormone receptor alpha1 can be ameliorated by T3 treatment / C. Venero, A. Guadano-Ferraz, A. I. Herrero [et al.] // *Genes Dev*. – 2005. – Vol. 19. – P. 2152–2163.
25. The thyroid hormone receptor-alpha (TRalpha) gene encoding TRalpha1 controls deoxyribonucleic acid damage-induced tissue repair / E. Kress, A. Rezza, J. Nadjar [et al.] // *Mol Endocrinol*. – 2008. – Vol. 22. – P. 47–55.
26. Thyroid hormone and angiogenesis / M. K. Luidens, S. A. Mousa, F. B. Davis [et al.] // *Vascul Pharmacol*. – 2010. – Vol. 52. – P. 142–145.
27. Cody V. Molecular modeling of the thyroid hormone interactions with alpha v beta 3 integrin / V. Cody, P. J. Davis, F. B. Davis // *Steroids*. – 2007. – Vol. 72. – P. 165–170.

28. Levin E. R. Rapid signaling by steroid receptors / E. R. Levin // *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. – 2008. – Vol. 295 (5). – P. 1425–1430.
29. Dillmann W. Cardiac hypertrophy and thyroid hormone signaling / W. Dillmann // *Heart Fail Rev*. – 2010. – Vol. 15. – P. 125–132.
30. Davis P. J. Mechanisms of nongenomic actions of thyroid hormone / P. J. Davis, J. L. Leonard, F. B. Davis // *Front Neuroendocrinol*. – 2008. – Vol. 29 (2). – P. 211–218.
31. Horn S. Thyroid hormone action during brain development: more questions than answers / S. Horn, H. Heuer // *Mol Cell Endocrinol*. – 2010. – Vol. 315 (1-2). – P. 19–26.
32. Lack of clastogenic effects of L-thyroxine in whole-blood cultured human lymphocytes / N. Djelic; D. Djelic, B. Spremo-Potparevic [et al.] // *Genet. Mol. Biol*. – 2007. – Vol. 30, – № 4. – P. 1144–1149.
33. Thyroid hormone receptor alpha 1: a switch to cardiac cell “metamorphosis”? / C. Pantos, C. Xinaris, I. Mourouzis [et al.] // *J Physiol Pharmacol*. – 2008. – Vol. 59. – P. 253–269.
34. Pantos C. Protection of the abnormal heart / C. Pantos, I. Mourouzis, D. V. Cokkinos // *Heart Fail Rev*. – 2007. – Vol. 12. – P. 319–330.
35. Zebrafish heart regeneration occurs by cardiomyocyte dedifferentiation and proliferation / C. Jopling, E. Sleep, M. Raya [et al.] // *Nature*. – 2010. – Vol. 464. – P. 606–609.
36. Pol C. J. Cardiomyocyte-specific inactivation of thyroid hormone in pathologic ventricular hypertrophy: an adaptive response or part of the problem? / C. J. Pol, A. Muller, W. S. Simonides // *Heart Fail Rev*. – 2010. – Vol. 15 (2). – P. 133-142.
37. Experimental hypothyroidism increases content of collagen and glycosaminoglycans in the heart / J. Drobniak, J. Ciosek, D. Slotwinska [et al.] // *Journal of physiology and pharmacology*. – 2009. – Vol. 60 (3). – P. 57-62.

38. On the biomechanical role of glycosaminoglycans in the aortic heart valve leaflet / C. E. Eckert, R. Fan, B. Mikulis [et al.] // *Acta Biomater.* – 2012. – Vol. 42 (12). – P. 1804–1824.
39. Procollagen synthesis is increased in hypothyroid rat ovary by a parallel and compensatory pathway / S. K. Saha, P. Ghosh, A. Konar [et al.] // *Cell Physiol Biochem.* – 2007. – Vol. 19. – P. 313–322.
40. Differential expression of procollagen lysine 2-oxoglutarate 5-deoxygenase and matrix metalloproteinase isoforms in hypothyroid rat ovary and disintegration of extracellular matrix / S. K. Saha, P. Ghosh, A. Konar [et al.] // *Endocrinology.* – 2005. – Vol. 146. – P. 2963–2975.
41. Thyrotropin versus thyroid hormone in regulating bone density and turnover in premenopausal women / L. Baqi, J. Payer, Z. Killinger [et al.] // *Endocr Regul.* – 2010. – Vol. 44 (2). P. 57–63.
42. Global analysis of DNA methylation in early-stage liver fibrosis / Y. Komatsu, T. Waku, N. Iwasaki [et al.] // *BMC Med Genomics.* – 2012. – Vol. 5, N 5.
43. Induced hypothyroidism accelerates the regression of liver fibrosis in rats / R. Bruck, S. Weiss, A. Traister [et al.] // *Gastroenterol Hepatol.* – 2007. – Vol. 22 (12). – P. 2189–2194.
44. Human fibrocytes coexpress thyroglobulin and thyrotropin receptor / R. Fernando, S. Atkins, N. Raychaudhuri [et al.] // *Proc Natl Acad Sci.* – 2012. – № 109 (19). – P. 7427–7432.
45. The hinge region of the TSH receptor stabilizes ligand binding and determines different signaling profiles of human and bovine TSH / H. Jaeschke, J. Schaarschmidt, R. Günther, S. Mueller // *Endocrinology.* – 2011. – № 152(10). P. 3986–3996.
46. Smaller cardiac cell size and reduced extra-cellular collagen might be beneficial for hearts of Ames dwarf mice / S. A. Helms, A. Gohar, Z. Chunlai [et al.] // *Int J Biol Sci.* – 2010. – № 6. – P. 475–490.

47. Different configurations of specific thyroid hormone response elements mediate opposite effects of thyroid hormone and GC-1 on gene expression / B. Gloss, G. Giannocco, E. A. Swanson [et al.] // *Endocrinology*. – 2005. – № 146 (11). – P. 4926–4933.
48. Robinson C. M. Epigenetics within the matrix: A neo-regulator of fibrotic disease / C. M. Robinson, C. J. Watson, J. A. Baugh // *Epigenetics*. – 2012. – № 9. – P. 987-993.
49. Deaton A. M. CpG islands and the regulation of transcription / A. M. Deaton, A. Bird // *Genes Dev*. – 2011. – Vol. 25, № 10. – P. 1010–1022.
50. Fibroblasts expressing the thyrotropin receptor overarch thyroid and orbit in Graves' disease / T. J Smith, D. A. Padovani-Claudio, Y. Lu [et al.] // 2011. – Vol. 96 (12). P. 3827–3837.
51. Epigenetic histone methylation modulates fibrotic gene expression / S. Guangdong, A. R. Marpadga, Y. Hang [et al.] // *Journal of The American Society Of Nephrology*. – 2010. – Vol. 21. – № 12. – P. 2069-2080.
52. Thyroid hormone inhibits ERK phosphorylation in pressure overload-induced hypertrophied mouse hearts through a receptor-mediated mechanism / J. Suarez, B. T. Scott, J. A. Suarez-Ramirez [et al.] // *Am J Physiol Cell Physiol*. – 2010. – Vol. 299 (6). – P. 1524–1529.
53. Thyroid Hormone Receptor- β Is Associated with Coronary Angiogenesis during Pathological Cardiac Hypertrophy / A. Makino, J. Suarez, H. Wang [et al.] // *Endocrinology*. – 2009. – Vol. 150 (4). – P. 2008–2015.
54. Ojamaa K. Signaling mechanisms in thyroid hormone-induced cardiac hypertrophy / K. Ojamaa // *Vascul Pharmacol*. –2010. – Vol. 52 (3-4). – P. 113–119.
55. Dorn G. W. The fuzzy logic of physiological cardiac hypertrophy / G. W. Dorn // *Hypertension*. – 2007. – Vol. 49 (5). – P. 962–970.

56. Wakatsuki T. The biochemical response of the heart to hypertension and exercise / T. Wakatsuki, J. Schlessinger, E. L. // *Elson Trends Biochem Sci.* – 2004. – Vol. 29 (11). – P. 609–617.
57. Disruption of coordinated cardiac hypertrophy and angiogenesis contributes to the transition to heart failure / I. Shiojima, K. Sato, Y. Izumiya [et al.] // *J Clin Investig.* – 2005. – Vol. 115 (8). – P. 2108–2118.
58. Induction of thyroid hormone-degrading deiodinase in cardiac hypertrophy and failure / F. W. Wassen, A. E. Schiel, G. G. Kuiper [et al.] // *Endocrinology.* – 2002. – Vol. 143 (7). – P. 2812–2815.
59. Hypoxia-inducible factor induces local thyroid hormone inactivation during hypoxic-ischemic disease in rats / W. S. Simonides, M. A. Mulcahey, E. M. Redout [et al.] // *J Clin Invest.* – 2008. – Vol. 118 (3). – P. 975–983.
60. Control of Stress-Dependent Cardiac Growth and Gene Expression by a MicroRNA / E. Rooij, L. B. Sutherland, Q. Xiaoxia [et al.] // *Science.* – 2007. – Vol. 316, № 5824. – P. 575–579.
61. Long-term thyroid hormone administration reshapes left ventricular chamber and improves cardiac function after myocardial infarction in rats / C. Pantos, I. Mourouzis, K. Markakis [et al.] // *Basic Res Cardiol.* – 2008. – Vol. 103 (4). – P. 308–318.
62. Gupta M. P. Factors controlling cardiac myosin-isoform shift during hypertrophy and heart failure / M. P. Gupta // *J Mol Cell Cardiol.* – 2007. – Vol. 43 (4). P. 388–403.
63. Treatment of subclinical hypothyroidism reverses ischemia and prevents myocyte loss and progressive LV dysfunction in hamsters and dilated cardiomyopathy / W. I. Khalife, Y. D. Tang, J. A. Kuzman [et al.] // *Am J Physiol. Heart Circ Physiol.* – 2005. – Vol. 289 (6). – P. 2409–2415.
64. Membrane receptor for thyroid hormone: physiologic and pharmacologic implications / P. J. Davis, F. B. Davis, S. A. Mousa [et al.] // *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* – 2011. – Vol. 51. – P. 99–115.

65. Davis P. J. Thyroid Hormone-Induced Angiogenesis / P. J Davis, F. B. Davis, S. A. Mousa // *Curr Cardiol Rev.* – 2009. – Vol. 5 (1). P. 12–16.
66. Vascular regrowth following photodynamic therapy in the chicken embryo chorioallantoic membrane / P. Nowak-Sliwinska, J. R. Beijnum, M. Berkel [et al.] // *Angiogenesis.* – 2010. – Vol. 13 (4). P. 281–292.
67. Evolution of the Molecular Biology of Brain Tumors and the Therapeutic Implications / P. Province, C. E. Griguer, H. Xiaosi [et al.] ; edited by T. Lichtor. – InTech, 2013. – 638 p.
68. Thyroid hormone receptor-dependent transcriptional regulation of fibrinogen and coagulation proteins / C. H. Shih, S. L. Chen, C. C. Yen [et al.] // *Endocrinology.* – 2004. – Vol. 145. P. 2804–2814.
69. Huang Y. H. Thyroid Hormone Dependent Regulation of Target Genes and Their Physiological Significance / Y. H. Huang, M. M. Tsai, K. H. Lin // *Chang Gung Med J.* – 2008. – Vol. 31. – P. 325–334.
70. Thyroid hormone induces cardiac myocyte hypertrophy in a thyroid hormone receptor alpha1-specific manner that requires TAK1 and p38 mitogen-activated protein kinase / K. Kinugawa, M. Y. Jeong, M. R. Bristow [et al.] // *Mol Endocrinol.* – 2005. – Vol. 19. P. 1618–1628.
71. Klein I. Thyroid and the Heart: The Intimacy Is Strained / I. Klein // *Thyroid.* – 2011. – Vol. 21 (5). P. 469–470.
72. Developmental expression analysis of thyroid hormone receptor isoforms reveals new insights into their essential functions in cardiac and skeletal muscles / P. White, K. A. Burton, A. L. Fowden [et al.] // *FASEB J.* – 2001. – Vol. 15. – P. 1367–1376.
73. Chassande O. Do unliganded thyroid hormone receptors have physiological functions? / O. Chassande // *J Mol Endocrinol.* – 2003. – Vol. 31. – P. 9–20.
74. Thyroid hormone receptor alpha is a molecular switch of cardiac function between fetal and postnatal life / W. Mai, M. F. Janier, N. Allioli [et al.] // *Proc Natl Acad Sci USA.* – 2004. – Vol. 101. P. 10332–10337.

75. Pantos C. Rebuilding the post-infarcted myocardium by activating ‘physiologic’ hypertrophic signaling pathways: the thyroid hormone paradigm / C. Pantos, I. Mourouzis, D. V. Cokkinos // *Heart Failure Reviews*. – 2008. – Vol. 15, № 2. – P. 143–154.
76. Thyroid hormone receptor alpha1 downregulation in postischemic heart failure progression: the potential role of tissue hypothyroidism / C. Pantos, I. Mourouzis, G. Galanopoulos [et al.] // *Horm Metab Res*. – 2010. – Vol. 42. P. 718–724.
77. Pantos C. Thyroid hormone as a therapeutic option for treating ischaemic heart disease: From early reperfusion to late remodeling / C. Pantos, I. Mourouzis, D. V. Cokkinos // *Vascular Pharmacology*. – 2010. – Vol. 52. – P. 157–165.
78. Кожем’якін Ю. М. Науково-практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та робота з ними / Ю. М. Кожем’якін. – К. : Авіцена, 2002. – С. 156.
79. Резніков О. Г. Проблеми етики при проведенні експериментальних медичних досліджень на тваринах / О. Г. Резніков // *Вісн. НАН України*. – 2001. – № 11. – С. 30-33.
80. Резніков А. Г. Биоэтические аспекты экспериментов на животных / А. Г. Резніков // *Клінічна хірургія*. – 2010. – № 6. – С. 8–13.
81. Экспериментальная модель гипотиреоза / В. Я. Хрыщанович, С. И. Третьяк, В. А. Горанов [та ін.] // *Медицинский журнал*. – 2008. – Т. 4.
82. Сторчило О. В. Влияние гипотиреоидного статуса на продукцию половых гормонов у самок крыс / О. В. Сторчило, Н. В. Мещерякова, В. Г. Маричереда // *Асоціація акушерів-гінекологів України : зб. наук. праць*. – К., 2011. – С. 814–817.
83. Панасюк М. Т. Зміни біохімічних показників крові у хворих на гіпо- та гіпертиреоз / М. Т. Панасюк, Е. О. Макеєва, М. Ф. Тимочко // *Клін. фізіологія і біохімія*. – 1998. – № 4. – С. 61–65.

84. Цинцадзе Т. Г. Нарушение способности к обучению у потомства крыс с дефицитом йода / Т. Г. Цинцадзе, Г. О. Габричидзе, Н. И. Лазришвили // Фізіол. журн. – 2006. – Т. 52. – № 1. – С. 82–88.
85. Пат. 2290859 Россия, МПК (2005) А61В5/01 (2006.01) А 61В 5/01. Способ диагностики экспериментального гипотиреоза у лабораторных животных / Козлов В.Н., Мамцев А.Н., Бондарева И.А. ; заявник та патентовласник МГУТУ. – № 2005115151/14, заявл 19.02.2005 ; опубл. 19.05.2005, Бюл. № 4. – 8 с. : іл.
86. Скрипниченко А. В. Состояние почечного транспорта эндогенных нитратов и нитритов на фоне комбинированного назначения крысам тироксина и каптоприла // Одеський медичний журнал. – 2009. – № 1. – С. 26–33.
87. Запорожан В. Н. Роль ренин-ангиотензиновой системы и цикла оксида азота в патогенезе гипертиреоидной почки / В. Н. Запорожан, С. И. Доломатов // Нефрология. – 2007. – Т.11. – № 1. – С. 92–99.
88. Алиева Г. Ф. Влияние норадреналина на параметры сокращения мышц белых крыс при экспериментальном гипертиреозе / Г. Ф. Алиева, В. И. Соболев // Ученые записки Таврического национального университета, серия «Биология, химия». – Т. 23 (62). – 2010. – №2. – С. 11-20.
89. Ходоровська А. А. Стан щитоподібної залози в умовах стресу при зміненому фотоперіоді: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. мед. наук : спец. 14.03.09 «Гістологія, цитологія, ембріологія» / А. А. Ходоровська. – К., 2006. — 19 с.
90. Воронович-Семченко Н. М. Функціональна здатність щитоподібної залози та морфологічний стан структур головного мозку у щурів з експериментальним йододефіцитним гіпотиреозом / Н. М. Воронович-Семченко // Експериментальна та клінічна фізіологія та біохімія. – 2008. – № 2. – Т.42. – С. 7–13.

91. Автандилов Г. Г. Медицинская морфометрия / Г. Г. Автандилов : Руководство. – М., 1990. – 384 с. : ил.
92. Автандилов Г. Г. Системная стереометрия в изучении патологического процесса / Г. Г. Автандилов, Н. И. Яблучанский, В. Г. Губенко. – М. : Медицина, 1981. – 192 с.
93. Зайцев В. М. Прикладная медицинская статистика / В. М. Зайцев, В. Г. Лифляндский, В. И. Маринкин ; СПб : Фолиант, 2003. – 432 с.
94. Лапач С.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel / С.Н. Лапач, А.В. Чубенко, П.Н. Бабич ; К. : Морион, 2001. – 408 с.
95. Румянцев П. О. Статистические методы анализа в клинической практике. Часть I. Одномерный статистический анализ / Румянцев П. О., Саенко У. В., Румянцева У. В. // Проблемы эндокринологии. – 2009. – № 5. – С. 48–55.
96. Мещерякова Н. В. Особенности патологического ремоделирования миокарда в условиях нарушенного тиреоидного статуса / Н. В. Мещерякова // Український медичний альманах. – 2010. – Т. 13, № 2. – С.15–16.
97. Zaporozhan V.M. Histopathological changes in rat liver in hyper- and hypothyroidism are associated with DNA methyltransferase activity / V. M. Zaporozhan, N. V. Mescheryakova // China Journal of Modern Medicine. – 2013. – Vol. 23, N 2. – P. 6–10.
98. Запорожан В. М. Патогенетична роль активності ДНК-метилтрансфери у розвитку фіброзу органів при гіпертиреозі та гіпотиреозі / В. М. Запорожан, Н. В. Мещерякова // Загальна патологія та патологічна фізіологія. – 2012. – Т. 7, № 4. – С. 59–67.
99. Пат. 78781 Україна, МПК (2012) А61 G01N 33/49. Спосіб ранньої діагностики фіброзу печінки, нирок, серця при експериментальному гіпертиреозі та гіпотиреозі / Запорожан В. М., Марічереда В. Г.,

- Мещерякова Н. В. ; заявник та патентовласник Одес. нац. мед. ун-т. – № u201213059 ; заявл. 16.11.2012 ; опубл. 25.03.2013, Бюл. № 6. – 2 с.
100. Мещерякова Н. В. Роль гипертиреоза в ремоделировании печени крыс / Е. Л. Холодкова, Н. В. Мещерякова // Український медичний альманах. – 2012. – Т. 15, № 6. – С. 181–183.
101. Мещерякова Н. В. Влияние тиреоидных гормонов на морфо-функциональное состояние семенников белых крыс / В. Г. Маричереда, Н. В. Мещерякова, Е. Л. Холодкова // Загальна патологія і патологічна фізіологія. – 2009. – Т. 4, № 3. – С. 43–47.
102. Станишевская Т. И. Характер взаимосвязи между гормонами гипофизарно-тиреоидной системы у человека в норме и на ее границах / Т. И. Станишевская, В. И. Соколов // Вісник Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна. Серія: біологія. – 2011. – Вип. 13, № 947. – С. 183–189.
103. Joklaas J. Correlation of free thyroid hormone measured by tandem mass spectrometry and immunoassay with thyroid-stimulating hormone across 4 patient population / J. Joklaas // Clinical Chemistry. – 2009. – Vol. 55. – P. 1380–1388.
104. Braverman L. E. Werner and Ingbar's The Thyroid: A Fundamental and Clinical Text / L. E. Braverman, R. D. Utiger, – Philadelphia : Lippincott Williams & Wilkins, 2005. – 9th ed. – P.622–626.
105. Tohei A. Studies on the functional relationship between thyroid, adrenal and gonadal hormones / A. Tohei // J Reprod Dev. – 2004. – Vol. 50 (1). – P. 9–20.
106. Hapon M. B. Effect of hypothyroidism on hormone profiles in virgin, pregnant and lactating rats, and on lactation / M. B. Hapon, M. Simoncini, G. Via, G. A. Jahn. // Reproduction. – 2003. – Vol. 126 (3). – P.371–382.

107. Варламова Т. М. Репродуктивное здоровье женщины и недостаточность функции щитовидной железы / Т. М. Варламова, М. Ю. Соколова // Гинекология. – 2004. – Т. 6. – № 1. – С. 29–31.
108. Перминова С. Т. Репродуктивная функция женщин с патологией щитовидной железы / С. Т. Перминова, В. В. Фадеев, И. Е. Корнеева // Проблемы репродукции. – 2006. – Т. 12, № 1. – С. 70–77.
109. Redmond J. P. Thyroid dysfunction and women's reproductive health / J. P. Redmond // Thyroid. – 2004. Vol. 14 (1). – P. 5–15.
110. The association between anti-thyroid antibodies and pregnancy loss / S. T. Metalon, M. Blank, A. Ornoy, G. Shoenfeld // Am. J. Reperd Immunol. – 2001. – Vol. 45, № 2. – P. 72–77.
111. Lebovic D. I. Premature ovarian failure. Think "autoimmune disorder" / D. I. Lebovic // Sex Reprod Menopanse. – 2004. – Vol. 2, № 4. P. 230–233.
112. Титенко Т. М. Особенности гинекологических заболеваний у женщин репродуктивного возраста с аутоиммунным тиреоидитом / Т. М. Титенко // Репродуктивное здоровье женщины. – 2006. – №1, 25. – С. 149–151.
113. Wagner M. S. The role of thyroid hormone in testicular development and function / M. S. Wagner, S. M. Wajner, A. L. Maia // Journal of Endocrinology. – 2008. – Vol. 199. – P. 351–365.
114. Kumar A. Secretion of testicular steroids and gonadotrophins in hypothyroidism / A. Kumar, B. P. Mohanty, L. Rani // Andrologia. – 2007. – Vol. 39 (6). – P. 253–260.
115. Hu J. Cellular cholesterol delivery, intracellular processing and utilization for biosynthesis of steroid hormones / J. Hu, Z. Zhang, W. J. Shen, S. Azhar // Nutr Metab. – 2010. – Vol. 7, 47. – P. 1–25.
116. Резников А. Г. Гендерные аспекты фармакологии / А. Г. Резников // Вісник фармакології та фармацевції. – 2009. – № 2. – С. 2–12.

117. Braverman L. E. Werner and Ingbar's The Thyroid: A Fundamental and Clinical Text / L. E. Braverman, D. Cooper, – Philadelphia : Lippincott Williams & Wilkins, 2012. – 10th ed. – P. 625–632.
118. Rajfer J. Relationship Between Testosterone and Erectile Dysfunction / J. Rajfer // Rev Urol. – 2000. – Vol. 2 (2). – P. 122–128.
119. Iredale J. P. Models of liver fibrosis: exploring the dynamic nature of inflammation and repair in a solid organ / J. P. Iredale // J Clin Invest. – 2007. – Vol. 117. – P. 539–548.
120. Friedman S. L. Mechanisms of hepatic fibrogenesis / S. L. Friedman // Gastroenterology. – 2008. – Vol. 134. P. 1655–1669.
121. Lee U. E. Mechanisms of hepatic fibrogenesis / U. E. Lee, S. L. Friedman // Best Pract Res Clin Gastroenterol. – 2011. – Vol. 25. P. 195–206.
122. Bataller R. Liver fibrosis / R. Bataller, D. A. Brenner // Clin Invest. – 2005. – Vol. 115. P. 209–218.
123. Leask A. TGF-beta signaling and the fibrotic response / A. Leask, D. J. Abraham // FASEB J. – 2004. – Vol. 18. P. 816–827.
124. Gressner A. M. Modern pathogenetic concepts of liver fibrosis suggest stellate cells and TGF-beta as major players and therapeutic targets / A. M. Gressner, R. Weiskirchen // J Cell Mol Med. – 2006. – Vol. 10. – P. 76–99.
125. Shi Y. Mechanisms of TGF-beta signaling from cell membrane to the nucleus / Y. Shi, J. Massague // Cell. – 2003. – Vol. 113. – P. 685–700.
126. Smad3: a key player in pathogenetic mechanisms dependent on TGF-beta / A. B. Roberts, A. Russo, A. Felici, K. C. Flanders // Ann N Y Acad Sci. – 2003. – Vol. 995. – P. 1–10.
127. Kisseleva T. Anti-fibrogenic strategies and the regression of fibrosis / T. Kisseleva, D. A. Brenner // Best Pract Res Clin Gastroenterol. – 2011. – Vol. 25. – P. 305–317.

128. Jun J. I. Taking aim at the extracellular matrix: CCN proteins as emerging therapeutic targets / J. I. Jun, L. F. Lau // *Nat Rev Drug Discov.* – 2011. – Vol. 10. – P. 945–963.
129. Profibrogenic transforming growth factor-beta/activin receptor-like kinase 5 signaling via connective tissue growth factor expression in hepatocytes / H. L. Weng, L. Ciucan, Y. Liu [et al.] // *Hepatology.* – 2007. – Vol. 46. – P. 1257–1270.
130. Differential effects of TGF-beta on connective tissue growth factor (CTGF/CCN2) expression in hepatic stellate cells and hepatocytes / O. A. Gressner, B. Lahme, I. Demirci [et al.] // *J Hepatol.* – 2007. – Vol. 47. – P. 699–710.
131. Increases in p53 expression induce CTGF synthesis by mouse and human hepatocytes and result in liver fibrosis in mice / T. Kodama, T. Takehara, H. Hikita [et al.] // *J Clin Invest.* – 2011. – Vol. 121. – P. 3343–3356.
132. Friedman S. L. Evolving challenges in hepatic fibrosis / S. L. Friedman // *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* – 2010. – Vol. 7. – P. 425–436.
133. Bissell D. M. Transforming growth factor beta and the liver / D. M. Bissell, D. Roulot, J. George // *Hepatology.* – 2001. – Vol. 34. – P. 859–867.
134. Dooley S. TGF- β in progression of liver disease / S. Dooley, D. P. Ten // *Cell Tissue Res.* – 2012. – Vol. 347. – P. 245–256.
135. Hinz B. The myofibroblast: paradigm for a mechanically active cell / B. Hinz // *J Biomech.* – 2010. – Vol. 43. – P. 146–155.
136. Increased Wnt signaling during aging alters muscle stem cell fate and increases fibrosis / A. S. Brack, M. J. Conboy, S. Roy [et al.] // *Science.* – 2007. – Vol. 317. – P. 807–810.
137. Schrimpf C. Mechanisms of fibrosis: the role of the pericyte / C. Schrimpf, J. S. Duffield // *Curr Opin Nephrol Hypertens.* – 2011. – Vol. 20. – P. 397–405.

138. Circulating fibrocytes-biology and mechanisms in wound healing and scar formation / G. Grieb, G. Steffens, N. Pallua [et al.] // *Int Rev Cell Mol Biol.* – 2011. – Vol. 291. – P. 1–19.
139. cAMP and Epac in the regulation of tissue fibrosis / P. A. Insel, F. Murray, U. Yokoyama [et al.] // *Br J Pharmacol.* – 2012. – Vol. 166, № 2. – P. 447–456.
140. Пальцев М. А. Патологическая анатомия / М. А. Пальцев, Н. М. Аничков. – М. : Медицина, 2001. – 35–39 с.
141. Пальцева М. А. Патология / М. А. Пальцева, В. С. Паукова, Э. Г. Улумбекова – М. : ГЭОТАР–МЕД, 2002. – 960 с.
142. Cellular and molecular basis of deiodinase-regulated thyroid hormone signaling / B. Gereben, A. M. Zavacki, S. Ribich [et al.] // *Endocr Rev.* – 2008. – Vol. 29. – P. 898–938.
143. Basset J. H. Mechanisms of thyroid hormone receptor specific nuclear and extra nuclear actions / J. H. Basset, C. B. Harvey, G. P. Williams // *Med Cell Endocrinol.* – 2003. – Vol. 213. – P. 1–11.
144. Uptake of thyroid hormone in neonatal rat cardiac myocytes / M. E. Everts, F. A. Verhoeven, K. Bezstarosti [et al.] // *Endocrinology.* – 1996. – Vol. 137. – P. 4235–4242.
145. Kiss E. Thyroid hormone induced alteration in phospholamban protein expression: Regulatory effects on sarcoplasmic reticulum Ca²⁺ transport and myocardial relaxation / E. Kiss, G. Jakab, E. G. Kranias, I. Edes // *Circ Res.* – 1994. – Vol. 75. – P. 245–251.
146. Dillmann W. H. Biochemical basis of thyroid hormone action in the heart / W. H. Dillmann // *Am J Med.* – 1990. – Vol. 88. – P. 626–630.
147. Changes in adenylyl cyclase isoforms as a mechanism for thyroid hormone modulation of cardiac beta-adrenergic receptor responsiveness / K. Ojamaa, I. Klein, A. Sabet, S. F. Steinberg // *Metabolism.* – 2000. – Vol. 49. – P. 275–279.

148. Thyroid hormone treatment after coronary-artery bypass surgery / J. D. Klemperer, I. Klein, M. Gomez [et al.] // *N Engl J Med.* – 1995. – Vol. 333. – P. 1522–1527.
149. Investigation of thyroid function and blood pressure in school-aged subjects without overt thyroid disease / H. Chen, Q. Xi, H. Zhang [et al.] // *Endocrine.* – 2012. – Vol. 41 (1). – P. 122–129.
150. Saito I. Hypertension in thyroid disorders / I. Saito, T. Saruta // *Endocrinol Metab Clin North Am.* – 1994. – Vol. 23. P. 379–386.
151. Fommei E. The role of thyroid hormone in blood pressure homeostasis: Evidence from short-term hypothyroidism in humans / E. Fommei, G. Lervasi // *J Clin Endocrinol Metab.* – 2002. – Vol. 87 (5). – P. 1996–2000.
152. Danzi S. Thyroid hormone and blood pressure regulation / S. Danzi, I. Klein // *Curr Hypertens Rep.* – 2003. – Vol. 5. P. 513–520.
153. Dernellis J. Effects of thyroid replacement therapy on arterial blood pressure in patients with hypertension and hypothyroidism / J. Dernellis, M. Panaretou // *Am Heart J.* – 2002. – Vol. 143. P. 718–724.
154. Sandeep C. The thyroid hormone, parathyroid hormone and vitamin D associated hypertension / C. Sandeep, C. Davis, J. Jubbin // *Jacob Indian J Endocrinol Metab.* – 2011. – Vol. 14. – P. 354–360.
155. Klein I, Ojamaa K. The cardiovascular system in hypothyroidism. In: Werner & Ingbar's *The Thyroid: a fundamental and clinical text* / I. Klein, K. Ojamaa, – Philadelphia : Lippincott Co, 2000. – 8th ed. – P. 777–782.
156. Larsen P. R. Nutritional and hormonal regulation of thyroid hormone deiodinases / P. R. Larsen, M. J. Berry // *Annu Rev Nutr.* – 1995. – Vol. 15. – P. 323–352.
157. Arterial stiffness is increased in subjects with hypothyroidism / A. G. Dagher, J. P. Lekakis, T. G. Papaioannou [et al.] // *Int J Cardiol.* – 2005. – Vol. 103. P. 1–6.

158. Renal sodium and water handling in hypothyroid patients: The role of renal insufficiency / M. Allon, A. Harrow, C. B. Pasque, M. Rodriguez // *J Am Soc Nephrol.* – 1990. Vol. 1. P. 205–210.
159. Klein I. Thyroid hormone and the cardiovascular system / I. Klein, K. Ojamaa // *N Engl J Med.* – 2001. Vol. 344. P. 501–509.
160. Gunasekera R. D. The influence of thyroid states upon responses of the rat aorta to catecholamines / R. D. Gunasekera, H. Kuriyama // *Br J Pharmacol.* – 1990. Vol. 99. P. 541–547.
161. Skowsky W. R. The role of vasopressin in the impaired water excretion of myxoedema / W. R. Skowsky, T. A. Kikuchi // *Am J Med.* – 1978. Vol. 64. – P. 613–621.
162. Mizuma H. Thyroid hormone activation in vascular muscle cells: expression of type II iodothyronine deiodinase / H. Mizuma, M. Murakami, M. Mori // *Circ Res.* – 2001. Vol. 88. – P. 313–318.
163. Effects of Thyroid Hormone on the Cardiovascular System / S. Fazio, E. A. Palmieri, G. Lombardi, B. Biondi // *Recent Progress in Hormone Research.* – 2004. – Vol. 59. – P. 31-50.
164. Predominance of isolated systolic hypertension among middle-aged and elderly US hypertensives: Analysis based on National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) III / S. S. Franklin, M. J. Jacobs, N. D. Wong [et al.] // *Hypertension.* – 2001. – Vol. 37. P. 869–874.
165. Prishant L. M. Hyperthyroidism: A secondary cause of isolated systolic hypertension / L. M. Prishant, J. S. Gujral, A. L. Mulloy // *J Clin Hypertens.* – 2006. – Vol. 8. – P. 596–599.
166. Resnick L. M. Plasma renin activity in syndromes of thyroid hormone excess and deficiency / L. M. Resnick, J. H. Laragh // *Life Sci.* – 1982. – Vol. 30. – P. 585–589.

167. Hanna F. W. Hyponatraemia, hypothyroidism and the role of arginine-vasopressin / F. W. Hanna, M. F. Scanlon // *Lancet*. – 1997. – Vol. 350. – P. 755–756.
168. Multicenter study on the prevalence of sexual symptoms in male hypo- and hyperthyroid patients / C. Carani, A. M. Isidori, A. Granata [et al.] // *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. – 2005. – № 90. – P. 6472–6479.
169. Holsberger D. R. Understanding the role of thyroid hormone in Sertoli cell development: a mechanistic hypothesis / D. R. Holsberger, P. S. Cooke // *Cell and Tissue Research*. – 2005. – № 322. – P. 133–140.
170. Krassas G. E. Male reproductive function in relation with thyroid alterations / G. E. Krassas, N. Pontikides // *Clinical Endocrinology and Metabolism*. – 2004. – № 18. – P. 183–195.
171. Ontogeny and regulation of variant thyroid hormone receptor isoforms in developing rat testis / E. A. Jannini, E. Carosa, N. Rucci [et al.] // *Journal of Endocrinological Investigation*. – 1999. – № 22. – P. 843–848.
172. Ontogenetic pattern of thyroid hormone receptor expression in the human testis / E. A. Jannini, A. Crescenzi, N. Rucci [et al.] // *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. – 2000. – № 85. – P. 3453–3457.
173. Hypothyroidism has an adverse effect on human spermatogenesis / G. E. Krassas, F. Papadopoulou, K. Tziomalos [et al.] // *Thyroid*. – 2008. – № 18. – P. 1255–1259.
174. Neepa Y. C. Role of thyroid hormones in human and laboratory animal reproductive health / Y. C. Neepa, G. D. Jahnke, C. S. Hilaire // *Birth defects research (Part B)*. – 2003. – № 68. – P. 479–491.
175. Thyroid hormone receptor-beta is associated with coronary angiogenesis during pathological cardiac hypertrophy / A. Makino, J. Suarez, H. Wang [et al.] // *Endocrinology*. – 2009. – Vol. 150. – P. 2008–2015.
176. Thyroid hormone improves function and Ca²⁺ handling in pressure overload hypertrophy: association with increased sarcoplasmic reticulum Ca²⁺-ATPase

- and α -myosin heavy chain in rat hearts / K. C. Chang, V. M. Figueredo, J. H. Schreur [et al.] // *J Clin Invest.* – 1997. – Vol. 100. – P. 1742–1749.
177. Gomberg-Maitland M. Thyroid hormone and cardiovascular disease / M. Gomberg-Maitland, W. H. Frishman // *Am Heart J.* – 1998. – Vol. 135. – P. 187–196.
178. Rupp H. Influence of thyroid hormones and catecholamines on myosin of swim-exercised rats / H. Rupp, R. Wahl // *J Appl Physiol.* – 1990. – Vol. 68. – P. 973–978.
179. Regulation of Thyroid Hormone Receptor Isoforms in Physiological and Pathological Cardiac Hypertrophy / K. Koichiro, Y. a Katsunori, C. J. Ralff Ribeiro [et al.] // *Circulation Research.* – 2001. – Vol. 89. – P. 591-598.
180. Calcineurin is activated in rat hearts with physiological left ventricular hypertrophy induced by voluntary exercise training / Y. Eto, K. Yonekura, M. Sonoda [et al.] // *Circulation.* – 2000. – Vol. 101. – P. 2134–2137.
181. Marchant C. Renin-angiotensin system in thyroid dysfunction in rats / C. Marchant, L. Brown, C. Sernia // *J Cardiovasc Pharmacol.* – 1993. – Vol. 22. – P. 449-455.
182. Thyroxine-induced cardiac hypertrophy: influence of adrenergic nervous system versus renin-angiotensin system on myocyte remodeling / L. W. Hu1, L. A. Benvenuti, E. A. Liberti [et al.] // *AJP - Regu Physiol.* – 2003. – Vol. 285, № 6. – P. 1473-1480.
183. Klein I. Thyroxine-induced hypertrophy: time course of development and inhibition by propranolol / I. Klein // *Endocrinology.* – 1988. – Vol. 123. – P. 203-210.
184. Hauger-Klevene J. H. Plasma renin activity in hyper- and hypothyroidism: effect of adrenergic blocking agents / J. H. Hauger-Klevene, H. Brown, J. Zavaleta // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 1972. – Vol. 34. – P. 625–629.

185. Thyroid hormone effects on cardiac gene expression independent of cardiac growth and protein synthesis / K. Ojamaa, A. M. Samarel, J. M. Kupfer [et al.] // *Am. J. Physiol.* – 1992. Vol. 263. – P. 534–540.
186. Endocrine and cardiac paracrine actions of insulin-like growth factor-I (IGF-I) during thyroid dysfunction in the rat: is IGF-I implicated in the mechanism of heart weight/body weight change during abnormal thyroid function? / M. R. Thomas, J. P. Miell, A. M. Taylor [et al.] // *J. Mol. Endocrinol.* – 1993. – Vol. 10. – P. 313–323.
187. Role of mitogen-activated protein kinase in cardiac hypertrophy and heart failure / Z. Weihua, E. Vijayan, S. N. Mohinder [et al.] // *Exp Clin Cardiol.* – 2003. – Vol. 8 (4). – P. 173–183.
188. Lowe W. Ligands that activate protein kinase-C differ in their ability to regulate basic fibroblast growth factor and insulin-like growth factor-I messenger ribonucleic acid levels / W. Lowe, M. A. Yorek, R. M. Teasdale // *Endocrinology.* – 1993. – Vol. 132. – P. 1593–1602.
189. Role of the renin-angiotensin system in cardiac hypertrophy induced in rats by hyperthyroidism / K. Hiroyuki, I. Atsuhiko, S. Hiromichi [et al.] // *Am J Physiol.* – 1997. – Vol. 273 (2). – P. 593–599.
190. Stretch-mediated activation of cardiac renin gene / P. H. Boer, M. Ruzicka, W. Lear [et al.] // *Am. J. Physiol.* – 1994. – Vol. 267. – P. 1630–1636.
191. Thyroid hormone stimulates renin synthesis in rats without involving the sympathetic nervous system / H. Kobori, A. Ichihara, H. Suzuki [et al.] // *Am J Physiol Endocrinol Metab.* – 1997. – Vol. 272. – P. 227–232.
192. Cardiac angiotensin receptors in experimental hyperthyroidism in dogs / C. Sernia, C. Marchant, L. Brown, A. Hoey // *Circ Res.* – 1993. – Vol. 27. P. 423-428.
193. Blockade of the renin-angiotensin system in cardiac pressure-overload hypertrophy in rats / G. Bruckschlegel, S. R. Holmer, K. Jandeleit [et al.] // *Hypertension.* – 1995. – Vol. 25. P. 250–259.

194. Nongenomic activation of phosphatidylinositol 3-kinase signaling by thyroid hormone receptors / F. Furuya, C. Lu, C. J. Guigon, S. Y. Cheng // *Steroids*. – 2009. – Vol. 74. – P. 628–634.
195. Kenessey A. Nuclear localization of protein kinase C- α induces thyroid hormone receptor- α 1 expression in the cardiomyocyte / A. Kenessey, E. A. Sullivan, K. Ojamaa // *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. – 2006. – Vol. 290. – P. 381–389.
196. Thyroid hormone mediated changes in gene expression can be initiated by cytosolic action of the thyroid hormone receptor β through the phosphatidylinositol 3-kinase pathway / L. C. Moeller, X. Cao, A. M. Dumitrescu [et al.] // *Nucl Recept Signal*. – 2006. – Vol. 4. – e 020.
197. Rapid signaling at the plasma membrane by a nuclear receptor for thyroid hormone / N. M. Storey, S. Gentile, H. Ullah [et al.] // *Proc Natl Acad Sci USA*. – 2006. – Vol. 103 (13). – P. 5197–5201.
198. The role of redox signaling in cardiac hypertrophy induced by experimental hyperthyroidism / A. S. Araujo, P. Schenkel, A. T. Enzweiler [et al.] // *A.J Mol Endocrinol*. – 2008. – Vol. 41 (6). P. 423–430.
199. Ojamaa K. Signaling Mechanisms in Thyroid Hormone-Induced Cardiac Hypertrophy / K. Ojamaa // *Vascul Pharmacol*. – 2010. – Vol. 52 (3). – P. 113–119.
200. Regulation of gene expression with thyroid hormone in rats with myocardial infarction / Y. F. Chen, J. V. Pottala, N. Y. Weltman [et al.] // *PLoS One*. – 2012. – Vol. 7, N 8. – e40161.
201. Overlapping nongenomic and genomic actions of thyroid hormone and steroids / P. J. Davis, H. Y. Lin, S. A. Mousa [et al.] // *Steroids*. – 2011. – Vol. 76 (9). P. 829–833.
202. Zoccali C. Thyroid, Renal Function, and Cardiac Outcome / C. Zoccali, F. Mallamaci // *Thyroid and Heart Failure*. – 2009. – Section III. – P. 191-201.

203. Thyroid hormone changes cardiomyocyte shape and geometry via ERK signaling pathway: Potential therapeutic implications in reversing cardiac remodeling? / C. Pantos, C. Xinaris, I. Mourouzis [et al.] // Cellular Biochemistry. – 2007. – Vol. 297, № 1–2. – P. 65-72.