

DOI: 10.31793/1680-1466.2020.25-2.137

# Морфологические изменения щитовидной железы крыс после интервального голодания

Р.В. Янко

Институт физиологии им. А.А. Богомольца НАН Украины

**Резюме.** Литературные данные относительно влияния интервального голодания на функциональную активность и, особенно, на морфологические изменения в щитовидной железе единичны. А имеющиеся сведения об его эффекте на морфо-функциональное состояние щитовидной железы часто противоречивы. **Цель работы** — исследовать морфологические изменения щитовидной железы взрослых крыс после воздействия интервального голодания. **Материал и методы.** Исследование проведено на 24 крысах-самцах линии Wistar в возрасте 15 месяцев. Подопытные крысы подвергались интервальному голоданию (1 день полное голодание / 2 дня стандартный рацион). Доступ к воде был свободным. Продолжительность эксперимента составляла 28 суток. Крыс декапитировали под легким эфирным наркозом. Работу с животными проводили в соответствии с принципами Хельсинкской декларации. Из ткани щитовидной железы изготавливали гистологические препараты по стандартной методике. С использованием цифровой камеры микропрепараты фотографировали на микроскопе «Nicon» (Япония). Морфометрию железы осуществляли на цифровых изображениях с помощью компьютерной программы «Image J». **Результаты.** Щитовидная железа крыс после влияния интервального голодания сохраняла физиологическую структуру с четким делением на центральную и периферическую зоны. Фолликулы в ней были разной величины и имели овальную и удлинненную форму. Коллоид фолликулов щитовидной железы подопытных животных был умеренной плотности, часто имел «пенистый» характер из-за наличия многочисленных резорбцированных вакуолей. Тиреоциты подопытных крыс имели кубическую и призматическую форму. Выявлено, что в щитовидной железе крыс, находившихся на интервальном голодании, уменьшаются размеры фолликулов и коллоида, снижается внутренний диаметр фолликулов, увеличивается высота тиреоцитов, возрастает фолликулярно-коллоидный индекс, снижается индекс накопления коллоида, возрастает количество резорбцированных вакуолей в коллоиде фолликулов и количество интерфолликулярных островков. В железе этих животных выявлено уменьшение относительной площади стромы и стромально-паренхиматозного индекса, а также снижение ширины прослоек междольевой, междольковой и междольковой соединительной ткани. **Вывод.** Влияние интервального голодания сопровождается появлением морфологических признаков активации синтетической активности щитовид-

\* Адреса для листування (Correspondence): Інститут фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України, вул. Богомольця, 4, м. Київ, 01024, Україна.  
E-mail: biolag@ukr.net

## Оригінальні дослідження

ной железы у взрослых крыс. Полученные данные могут представлять интерес для практической медицины при решении вопроса о назначении интервального голодания людям с пониженной функцией щитовидной железы.

**Ключевые слова:** интервальное голодание, щитовидная железа.

В наше время интервальное голодание (ИГ) приобрело широкую популярность среди немедикаментозных методов профилактики и лечения различных патологий организма. Доказано, что ИГ способно продлевать жизнь лабораторных животных, что сопровождается повышением эффективности функционирования молекулярных и клеточных систем и увеличением адаптивных возможностей организма по сравнению с питанием *ad libitum* [1, 2]. В основе положительного эффекта ИГ лежит аутолиз нежизнеспособных клеточных структур, активное освобождение от конечных продуктов обмена веществ, эндотоксинов, включая метаболиты лекарств, чужеродных антигенов, изменения состояния рецепторов клеток, повышение активности факторов неспецифической резистентности при одновременной стимуляции процессов регенерации [3-5]. ИГ оказывает корректирующее влияние на измененные показатели гомеостаза и является модулятором, который устраняет структурную и функциональную патологию тканей и органов путем интенсификации метаболизма в пределах физиологической нормы. Все это дает основания использовать его в лечении и профилактике заболеваний [6].

Однако, несмотря на хорошо изученный эффект ИГ на организм, литературные данные относительно его влияния на функциональную активность и, особенно, на морфологические изменения в щитовидной железе (ЩЖ) единичны. А имеющиеся сведения о влиянии ИГ на морфо-функциональное состояние ЩЖ часто противоречивы, что не позволяет сделать однозначных выводов относительно характера его воздействия на активность железы. До последнего времени главное внимание исследователей было сосредоточено на исследовании изменений продукции тиреоидных гормонов и их содержания в крови под воздействием ИГ [7-9]. Литературных данных о том, как изменяется гистологическая структура ЩЖ при

ИГ, нами не обнаружено, что подтверждает актуальность проведения исследований в данном направлении.

**Цель работы** — исследовать морфологические изменения ЩЖ взрослых крыс после воздействия интервального голодания.

### Материал и методы

Исследование проведено на 24 крысах-самцах линии Wistar в возрасте 15 месяцев. Животные находились в унифицированных условиях, на стандартном рационе. Крыс разделили на 2 группы (по 12 животных в каждой): I — контрольные животные, II — подопытные крысы, которые подвергались интервальному голоданию, а именно: 1 день полное голодание / 2 дня стандартный виварийный рацион. Доступ к воде был свободным. Продолжительность эксперимента составляла 28 суток. Крыс декапитировали под легким эфирным наркозом. Работу с крысами проводили в соответствии с принципами Хельсинкской декларации 1975 года и ее пересмотра 1983 года, а также согласно «Правил выполнения работ с использованием экспериментальных животных», утвержденных МЗ Украины.

Из центральных участков ткани ЩЖ изготавливали гистологические препараты по стандартной методике: фиксировали в жидкости Буэна, обезвоживали в спиртах возрастающей концентрации (от 70° до 96°) и диоксане. Полученные образцы заливали в парафин. Парафиновые срезы толщиной 5-6 мкм изготавливали на санном микротоме, окрашивали гематоксилином Бемера и эозином. Для визуализации элементов соединительной ткани применяли методы двух- и трехцветной окраски по Ван-Гизону и Массону [10]. С использованием цифровой камеры микропрепараты фотографировали на микроскопе «Nicon» (Япония). Морфометрию осуществляли с помощью компьютерной программы «Image J».

На гистологических срезах ЩЖ измеряли площадь поперечного сечения фолликулов, коллоида и фолликулярного эпителия; внешний и внутренний диаметры фолликулов; высоту фолликулярного эпителия. Подсчитывали среднее количество тиреоцитов в фолликулах. Определяли фолликулярно-коллоидный индекс и индекс накопления коллоида. С использованием метода наложения точечных морфометрических сеток вычисляли относительную площадь соединительной ткани, паренхимы железы, определяли стромально-паренхиматозный индекс (отношение относительной площади стромы к относительной площади паренхимы железы). Измеряли ширину прослоек междольевой, междольковой и межфолликулярной соединительной ткани [11, 12].

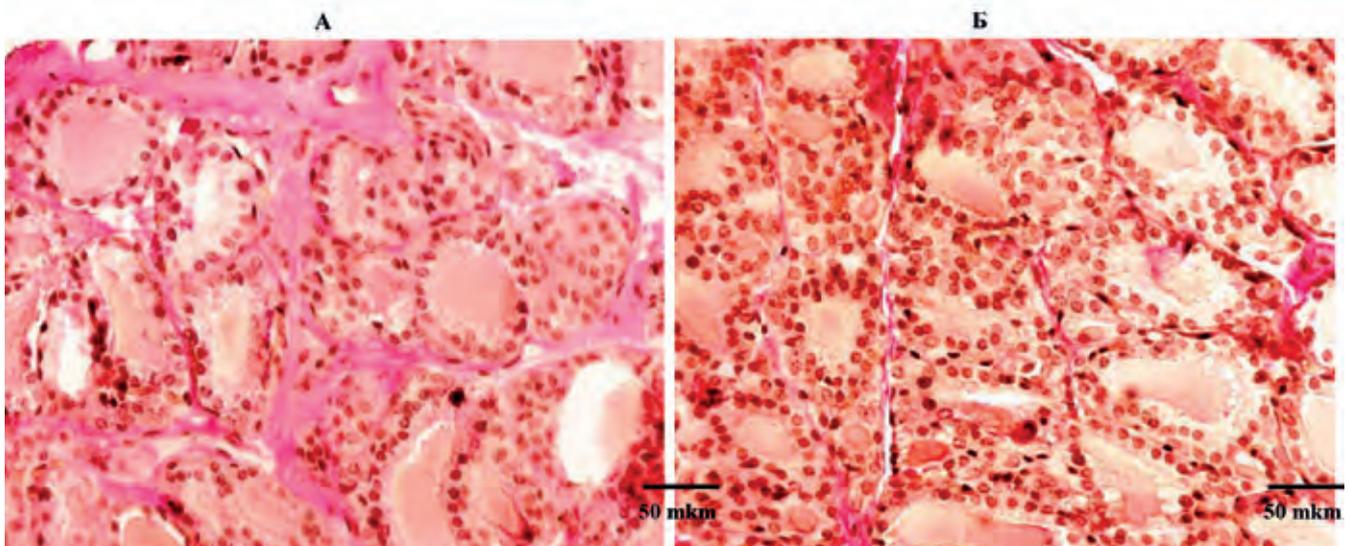
Статистическую обработку осуществляли методами вариационной статистики с помощью компьютерной программы Statistica 6.0. Нормальность распределения цифровых массивов проверяли, используя критерий Пирсона. Для оценки коэффициента различий достоверности разницы между контрольной и подопытной группой использовали t-критерий Стьюдента. Различия считали достоверными при значении  $p < 0,05$ .

## Результаты и обсуждение

Щитовидная железа крыс после влияния ИГ сохраняла нормальную структуру с четким деле-

нием на центральную и периферическую зоны. Фолликулы ЩЖ были разной величины и имели овальную и удлинненную форму. Фолликулы мелкого и среднего размера локализовались преимущественно в центральной части железы, а большого размера — по периферии. Коллоид фолликулов ЩЖ интактных животных был умеренной плотности и содержал небольшое количество резорбцированных вакуолей. Коллоид фолликулов ЩЖ подопытных животных был умеренной плотности, часто имел «пенистый» характер из-за наличия многочисленных резорбцированных вакуолей (рис.).

У крыс, находившихся на ИГ, выявлена тенденция к увеличению относительной площади паренхимы ЩЖ на 8% по сравнению с контролем. Площадь поперечного сечения фолликулов и коллоида ЩЖ у подопытных крыс были меньше на 10% и 18% ( $p < 0,05$ ) соответственно, чем в контроле. Это может свидетельствовать о повышении активности железы и, в первую очередь, об активации высвобождения гормонов в кровеносное русло [11]. Внутренний диаметр фолликулов животных, подвергавшихся воздействию ИГ, также был достоверно меньшим на 15% по сравнению с контролем. Тиреоциты подопытных крыс часто имели призматическую форму, а высота их была на 11% большей, чем в контроле (табл.), что также свидетельствует об активной резорбции тиреоглобулина и секреции гормонов в кровеносное русло [13].



**Рис.** Микрофотография среза щитовидной железы контрольного животного (А) и крысы после воздействия интервального голодания (Б): окрашивание по Ван-Гизону,  $\times 400$ .

## Оригінальні дослідження

Фолликулярно-коллоидный индекс (отношение площади поперечного сечения фолликулярного эпителия к площади коллоида) в ЩЖ подопытных крыс был достоверно больше на 16% по сравнению с контролем. В то же время индекс накопления коллоида (отношение внутреннего диаметра фолликула к двойной высоте фолликулярного эпителия), наоборот, был достоверно меньше на 23% (табл.). Такие изменения данных показателей свидетельствуют об усилении секреции тиреоидных гормонов в кровеносное русло [11].

У крыс, находившихся на ИГ, выявлена тенденция к увеличению количества интерфолликулярных островков, что можно рассматривать как признак активации процессов фолликулогенеза (регенерации ЩЖ). Установлено, что интерфолликулярные островки содержат малодифференцированные клетки, которые могут быть источником для формирования новых фолликулов [14].

У подопытных крыс выявлены существенные изменения в строме ЩЖ. Так, у них наблюдали достоверное уменьшение относительной площади стромы и стромально-паренхиматозного индекса на 16% и 22% соот-

**Таблица.** Морфометрические показатели щитовидной железы (n=12, M±m)

Показатель	Контроль	Опыт
Паренхима		
Относительная площадь, %	68,4±1,5	73,6±1,5
Площадь, мкм <sup>2</sup>		
фолликула	2915±72	2621±70
коллоида	1247±75	1027±47*
фолликулярного эпителия	1668±60	1524±54
Диаметр фолликула, мкм		
внешний	57,0±1,2	54,1±1,8
внутренний	35,9±1,6	30,6±1,1*
Высота тиреоцитов, мкм	10,6±0,4	11,8±0,5
Фолликулярно-коллоидный индекс	1,34±0,05	1,55±0,04*
Индекс накопления коллоида	1,69±0,09	1,30±0,05*
Количество тиреоцитов в фолликуле, шт.	23,9±0,5	22,1±0,8
Соединительная ткань		
Относительная площадь, %	31,6±1,5	26,4±1,2*
Стромально-паренхиматозный индекс	0,46±0,04	0,36±0,03*
Ширина прослоек соединительной ткани, мкм		
междолевой	24,5±0,9	21,5±0,8*
междольковой	10,8±0,4	9,2±0,3*
межфолликулярной	2,3±0,1	1,38±0,1*

Примечание: \* — достоверная разница с контролем (p<0,05).

ветственно по сравнению с контролем. Также у животных после воздействия ИГ выявили снижение ширины прослоек междолевой (на 12%), междольковой (на 15%) и межфолликулярной (на 40%) соединительной ткани (табл.). Уменьшение относительной площади стромы и, соответственно, увеличение относительной доли паренхиматозных элементов в железе может рассматриваться как один из признаков активации ее функции и повышения регенеративных возможностей. Очевидно, что уменьшение ширины прослоек и массы соединительной ткани ЩЖ в целом улучшает межфолликулярный обмен веществ и проникновение гормонов в кровь [15].

Литературных данных относительно влияния ИГ на ЩЖ мало, а имеющиеся результаты имеют неоднозначный характер. Преимущественно исследовали концентрацию тиреоидных гормонов в крови людей или животных, которые получали сниженный по калорийности рацион. Выявлено, что ограничение питания по-разному влияет на концентрацию тиреоидных гормонов в сыворотке крови крыс. Так, у животных, получавших сниженный рацион, заметили, что концентрация тироксина (Т<sub>4</sub>) в сыворотке крови не изменялась, концентрация трийодтиронина (Т<sub>3</sub>) снижалась, а обратного (реверсивного) Т<sub>3</sub>, наоборот, увеличивалась [7]. Другие ученые обнаружили снижение всех гормонов ЩЖ в крови после воздействия ограниченного питания [8, 16-18]. В то же время некоторые исследователи наблюдали, что после воздействия месячной низкокалорийной диеты содержание Т<sub>3</sub> и Т<sub>4</sub> в крови существенно возрастает, а концентрация тиреотропного гормона, наоборот, снижается [9]. Неоднозначность результатов может быть связана с использованием в экспериментах различных режимов ограничения питания, животных или людей разного возраста, разной продолжительностью опытов.

## Выводы

1. 28-суточное воздействие интервального голодания (1 день полное голодание / 2 дня стандартный рацион) на взрослых крыс приводит к появлению морфологических признаков повышения функциональной активности щитовидной железы. На это

указывает уменьшение размеров фолликулов и коллоида, снижение внутреннего диаметра фолликулов, увеличение высоты тиреоцитов, рост фолликулярно-коллоидного индекса, снижение индекса накопления коллоида, наличие многочисленных резорбированных вакуолей в коллоиде фолликулов, увеличение численности интерфолликулярных островков, уменьшение относительной площади стромы в железе.

- Эти данные могут иметь не только теоретическое значение, но и представлять определенный практический интерес при использовании интервального голодания для повышения функции щитовидной железы.

### Список использованной литературы

- Падалко ВИ, Леонова ИС, Козлова ЕВ. Влияние калорийно ограниченной диеты на продолжительность жизни и некоторые показатели биологического возраста *Drosophila melanogaster*. Пробл. старения и долголетия. 2009; 18(1):64-71. (Padalko VI, Leonova IS, Kozlova EV. The effect of a calorie restricted diet on life expectancy and some indicators of biological age of *Drosophila melanogaster*. Probl. aging and longevity. 2009; 18(1):64-71).
- Mitchell SJ, Bernier M, Mattison JA, Aon MA, Kaiser TA, Anson RM, et al. Daily fasting improves health and survival in male mice independent of diet composition and calories. *Cell Metab*, 2019 Jan 8; 29(1):221-8, doi: 10.1016/j.cmet.2018.08.011, Epub 2018 Sep 6.
- Березовський ВЯ, Янко РВ, Літовка ІГ. Вплив аліментарної депривації на фізіологічну регенерацію паренхіми печінки молодих і дорослих щурів. *Фізіол. Журн.* 2008; 54(6):66-71. (Berezovs'kyi VYa, Yanko RV, Litovka IG. Effect of alimentary deprivation on physiological regeneration of the liver parenchyma in young and mature rats. *Fiziol Zh.* 2008; 54(6):66-71).
- Longo VD, Mattson MP. Fasting: molecular mechanisms and clinical applications. *Cell Metab*. 2014 Feb 4; 19(2):181-92, doi: 10.1016/j.cmet.2013.12.008.
- Mattson MP, Wan R. Beneficial effects of intermittent fasting and caloric restriction on the cardiovascular and cerebrovascular systems. *J. Nutr. Biochem.* 2005; 16(3):129-37.
- Mattson MP, Allison DB, Fontana L, Harvie M, Longo VD, Malaisse WJ, et al. Meal frequency and timing in health and disease. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2014 Nov 25; 111(47):16647-53. doi: 10.1073/pnas.1413965111, Epub 2014 Nov 17.
- Moreira-Andres MN, Black EG, Ramsden DB, Hoffenberg R. The effect of calorie restriction on serum thyroid hormone binding proteins and free hormone in obese patients. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 1980; 12(3):249-55.
- Herlihy JT, Stacy C, Bertrand NA. Long-term food restriction depresses serum thyroid hormone concentrations in therat. *Mech Ageing Dev.* 1990; 53:9-16.
- Sultan S, Rashed L. Effect of low calorie diet and exercise on thyroid hormones and leptin levels, *Med, J, Cairo Univ*, 2009; 77(1):33-39.
- Данилов РК. Руководство по гистологии, Том II, Санкт-Петербург: СпецЛит, 2011. (Danilov RK, Guide to histology, Volume II, St, Petersburg: SpecLith, 2011).
- Никишин ДВ. Морфология и методы исследования щитовидной железы: методические рекомендации. Пенза: Инф. — изд. центр ПГУ, 2008. (Nikishin DV. Morphology and methods of thyroid research: methodical recommendations. Penza: Inf, of publ, center PGU, 2008).
- Янко РВ. Вплив метіоніну на морфологічні зміни щитоподібної залози щурів. *Ендокринологія.* 2019; 24(1):41-5. doi:

10,31793/1680-1466,2019,24-1,41. (Yanko RV. The effect of methionine on the morphological changes of the thyroid gland of rats. *Endokrynologia.* 2019; 24(1):41-5).

- Юлдашева ФЗ, Юлдашев АЮ, Исмаилов СИ, Рашитов ММ. Ультраструктурная характеристика тиреоцитов при гипо- и гиперфункции щитовидной железы. *Клиническая тиреология.* 2011; 35(3):132-5. (Yuldasheva FZ, Yuldashev AYU, Ismailov SI, Rashitov MM. Ultrastructural description of thyrocytes in thyroid hypo- and hyperactivity. *Clinical Thyroidology.* 2011; 35(3):132-5).
- Aleshin BV, Brindak OI, Mamina VV. Correlations between the functional activity and proliferation of the thyroid parenchyma. The proliferative forms of the parenchyma of the thyroid. *Probl Endokrinol (Mosk)*, 1987 Nov-Dec; 33(6):67-72.
- Ludwig KS. Structure of the thyroid gland; I. Structure of connective tissue. *Acta Anat (Basel)*, 1952; 15(3):300-8.
- Lachowicz K, Fuerstenberg E, Pałkowska E, Stachoń M, Gajewska D, Myszkowska-Ryciak J, et al. The effects of caloric restriction and age on thyroid hormone signalling in the heart of rats. *Journal of Animal and Feed Sciences.* 2014; 23:97-104.
- Roth GS, Handy AM, Mattison JA, Tilmont EM, Ingram DK, Lane MA. Effects of dietary caloric restriction and aging on thyroid hormones of rhesus monkeys. *Horm Metab Res.* 2002; 34:378-82.
- Weiss EP, Villareal DT, Racette SB, Steger-May K, Premachandra BN, Klein S, et al. Caloric restriction but not exercise-induced reductions in fat mass decrease plasma triiodothyronine concentrations: a randomized controlled trial. *Rejuvenation research.* 2008; 11(3):605-9, doi:10.1089/rej.2007.0622.

(Надійшла до редакції 20.02.2020 р.)

## Морфологічні зміни щитоподібної залози щурів після інтервального голодування

**Р.В. Янко**

Інститут фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України

**Резюме.** Літературні дані щодо впливу інтервального голодування на функціональну активність і, надто, на морфологічні зміни в щитоподібній залозі обмежено. А наявні відомості про його вплив на морфо-функціональний стан щитоподібної залози часто є суперечливими. **Мета роботи** — дослідити морфологічні зміни щитоподібної залози дорослих щурів після впливу інтервального голодування. **Матеріал і методи.** Дослідження проведено на 24 щурах-самцях лінії Wistar віком 15 місяців. Дослідних щурів піддавали інтервальному голодуванню (1 день цілковите голодування / 2 дні стандартний раціон). Доступ до води був вільним. Тривалість експерименту становила 28 діб. Щурів декапітували під легким ефірним наркозом. Роботу зі щурами проводили відповідно до принципів Гельсінської декларації. З тканини щитоподібної залози виготовляли гістологічні препарати за стандартною методикою. З мікропрепаратів залози робили фотознімки за допомогою цифрової камери. Морфометрію залози здійснювали на цифрових зображеннях за допомогою комп'ютерної програми «Image J». **Результати.** Щитоподібна залоза щурів після впливу інтервального голодування зберігала фізіологічну структуру з чітким розподілом на центральну та периферичну зони. Фолікули в ній були різної величини та мали овальну й видовжену форму. Колоїд фолікулів щитоподібної залози до-

## Оригінальні дослідження

слідних тварин був помірної щільності, часто мав «пінистий» характер через наявність численних резорбованих вакуолей. Тиреоцити дослідних щурів мали кубічну та призматичну форму. Виявлено, що в щитоподібній залозі дорослих щурів, які перебували на інтервальному голодуванні, зменшуються розміри фолікулів та колоїду, знижується внутрішній діаметр фолікулів, збільшується висота тиреоцитів, зростає фолікулярно-колоїдний індекс, знижується індекс накопичення колоїду, зростає кількість резорбованих вакуолей у колоїді фолікулів і кількість інтерфолікулярних острівців. У залозі цих тварин виявлено зменшення відносної площі строми та стромально-паренхіматозного індексу, а також зниження ширини прошарків міжчасткової, міжчасточкової та міжфолікулярної сполучної тканини. **Висновки.** Вплив інтервального голодування супроводжується появою морфологічних ознак активації синтетичної активності щитоподібної залози в дорослих щурів. Отримані дані можуть представляти інтерес для практичної медицини у вирішенні питання про призначення інтервального голодування людям зі зниженою функцією щитоподібної залози.

**Ключові слова:** інтервальне голодування, щитоподібна залоза.

## Morphological changes in the thyroid gland of rats after interval fasting

**R.V. Yanko**

O.O. Bogomoletz Institute of Physiology, Nat. Acad. Sci. of Ukraine

**Abstract.** Literature data on the effect of interval fasting on functional activity and, especially, on morphological changes in the thyroid gland are sporadic. And the available information about its effect on the morphological and functional state of the thyroid gland is often contradictory. **The aim of the work** — to study the morphological changes in the thyroid

gland of adult rats after exposure to interval fasting. **Material and methods.** The study was conducted on 24 male Wistar rats at the age of 15 months. The experimental rats underwent interval fasting (1 day complete fasting / 2 days standard diet). Access to water was free. Duration of experiment was 28 days. Rats were decapitated under mild ether anesthesia. Work with animals was carried out in accordance with the principles of the Helsinki Declaration. From thyroid tissue preparations were made according to standard histological methods. Micrographs of the gland were taken with a digital camera. Gland morphometry was performed on digital images using a computer program Image J. **Results.** The thyroid gland of rats, after the influence of interval fasting, retained the physiological structure, with a clear division into the central and peripheral zones. The follicles in it were of different sizes and had an oval and elongated shape. The colloid of the thyroid follicles of the experimental animals was of moderate density, often had a «foamy» character due to the presence of resorption vacuoles. The thyroid cells of experimental rats had a cubic and prismatic shape. It was found that in the thyroid gland of adult rats, after influence the interval fasting, decreased the size of the follicles and colloid, the inner diameter of the follicles, increased the thyroid cell height, the follicular-colloid index and decreased the colloid accumulation index, increased the number of resorption vacuoles in the colloid of follicles and the amount of interfollicular islets. In the glands of these animals were revealed a decreased in the relative area of the stroma and stromal-parenchymal index, as well as a decreased in the width of the interlobar, interlobular, and interfollicular connective tissue. **Conclusion.** The effect of interval fasting has morphological signs of activation of the thyroid gland synthetic activity in adult rats. The data obtained may be of interest for practical medicine in deciding on the appointment of interval fasting to people with reduced thyroid function.

**Keywords:** interval fasting, thyroid gland.