

**МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ  
НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ  
І ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ**

**БОКОТЬКО РОМАН РОМАНОВИЧ**

УДК 619:602.9:611.018:616.61

**РЕГЕНЕРАТИВНІ ПРОЦЕСИ У ЩИТОПОДІБНІЙ ЗАЛОЗІ ТВАРИН  
ЗА ГІПОТИРЕОЗУ ТА ЇХ СТИМУЛЯЦІЯ МЕЗЕНХІМНИМИ  
СЛОВ'ЯКОВИМИ КЛІТИНАМИ**

16.00.02 «Патологія, онкологія і морфологія тварин»

Автореферат дисертації на здобуття наукового ступеня  
кандидата ветеринарних наук

Київ – 2019

Дисертацією є рукопис

Роботу виконано в Національному університеті біоресурсів і природокористування України Міністерства освіти і науки України

**Науковий керівник** доктор ветеринарних наук, професор,  
член-кореспондент НААН  
**Мазуркевич Анатолій Йосипович**,  
Національний університет біоресурсів  
і природокористування України,  
професор кафедри хірургії і патофізіології  
імені академіка І. О. Поваженка

**Офіційні опоненти:** доктор ветеринарних наук, професор  
**Коцюмбас Галина Іванівна**,  
Львівський національний університет  
ветеринарної медицини та біотехнологій  
імені С. З. Гжицького,  
завідувач кафедри нормальної  
та патологічної морфології і судової ветеринарії

доктор ветеринарних наук, професор  
**Горальський Леонід Петрович**,  
Житомирський національний  
агроекологічний університет,  
завідувач кафедри анатомії і гістології

Захист відбудеться «16» травня 2019 року о 13<sup>00</sup> годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 26.004.03 у Національному університеті біоресурсів і природокористування України за адресою: 03041, м. Київ, вул. Героїв Оборони, 15, навчальний корпус № 3, кімната 301

З дисертацією можна ознайомитися у науковій бібліотеці Національного університету біоресурсів і природокористування України за адресою: 03041, м. Київ, вул. Героїв Оборони, 13, навчальний корпус № 4, кімната 41а

Автореферат розіслано «12» квітня 2019 року

Вчений секретар  
спеціалізованої вченої ради

Н. Г. Грушанська

## ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

**Актуальність теми.** Використання досягнень біотехнології для підвищення ефективності лікування тварин за гіпотиреозу різного походження одне із найперспективніших завдань ветеринарної науки і практики (Blanton M. W. et al., 2014). Якісно новим вирішенням проблеми репаративних процесів у щитоподібній залозі тварин є використання диференційованих чи недиференційованих клітин аутологічного або алогенного походження, отриманих з використанням клітинних технологій (Мазуркевич А. Й. та ін., 2013; Мазуркевич А. Й., Малюк М. О., Харкевич Ю. О. та ін., 2017). У літературі наведено результати експериментальних досліджень щодо лікування тварин за аутоімунного тиреоїдиту шляхом трансплантації мезенхімних стовбурових клітин (Rasulov M. F. et al., 2011; Falanga V. et al., 2012).

Застосування мезенхімних (мезенхімних, стромальних) стовбурових клітин у ветеринарній медицині за гіпотиреозу тварин базується на достатній науково-методичній базі. Розроблені методи відбору кісткового мозку тварин і виділення з нього фракції моноклеарних клітин з високою проліферативною активністю дозволяють якнайшвидше отримати необхідну кількість мезенхімних стовбурових клітин та використати їх з метою стимуляції репаративних процесів у патологічно змінених тканинах та органах тварин.

Встановлено, що останні, завдяки своїм імуномодуючим властивостям і здатності диференціюватися у багатьох напрямках, є найперспективнішим джерелом клітинного матеріалу (Ковпак В. В., 2010; Харкевич Ю. А., 2012; Журба В. І., 2013; Малюк М. О., 2016; Rasmusson I., 2006; Eslaminejad M. B., 2009). Водночас, залишаються мало вивченими питання клінічного використання стовбурових клітин за гіпотиреозу, не з'ясовано особливості реакції організму реципієнта на введення чужорідних клітин, не визначено дози та шляхи їх введення в кожному конкретному випадку, показання та протипоказання до їх застосування.

З огляду на це, вивчення біологічних властивостей мезенхімних стовбурових клітин за їх культивування та використання для стимуляції репаративних процесів за гіпотиреозу тварин є актуальним завданням.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Дисертацію виконано як складову частину науково-дослідних робіт кафедри хірургії і патофізіології імені академіка І. О. Поваженка Національного університету біоресурсів і природокористування України за темою «Дослідити особливості коригуючої дії введених стовбурових клітин на патологічно змінені структури і функції тканин в організмі тварин-реципієнтів» (номер державної реєстрації 0115U003476, 2015–2017 рр.).

**Мета та завдання дослідження.** Мета дослідження – виявити морфофункціональні зміни в організмі білих щурів, собак і котів за гіпотиреозу за динамікою морфологічних змін у щитоподібній залозі, біохімічних, гістологічних та гормональних показників крові; встановити активність відновлювальних процесів у щитоподібній залозі тварин після застосування алогенних мезенхімних стовбурових клітин і традиційного методу лікування.

Для досягнення мети поставлено та вирішено такі завдання:

– дослідити на білих щурах із експериментальним гіпотиреозом функціонування ушкодженої щитоподібної залози на 65 добу моделювання у них гіпотиреозного стану (вихідний стан) та активність відновлювальних процесів у ній через 20 діб, 40, 60 та 90 діб після трансплантації алогенних мезенхімних стовбурових клітин за показниками:

- ✓ клінічних проявів експериментального та спонтанного гіпотиреозу;
- ✓ вмісту вільного тироксину, вільного трийодтироніну, тиреотропного гормону, паратгормону, кальцитоніну;

- ✓ вмісту в крові тварин глюкози та холестеролу;

- ✓ морфологічних і морфометричних змін у щитоподібній залозі;

- ✓ динаміки маси тіла досліджуваних тварин;

– порівняти ефективність впливу трансплантованих алогенних мезенхімних стовбурових клітин на активність відновлювальних процесів у щитоподібній залозі щурів за експериментального гіпотиреозу залежно від способу їх застосування;

– порівняти ефективність застосування мезенхімних стовбурових клітин та традиційного методу лікування тварин за експериментального гіпотиреозу;

– провести на собаках і котах клінічні випробування ефективності застосування алогенних мезенхімних стовбурових клітин у лікуванні спонтанного гіпотиреозу.

*Об'єкт дослідження* – відновлювальні процеси у щитоподібній залозі тварин за гіпотиреозу та за впливу алогенних мезенхімних стовбурових клітин.

*Предмет дослідження* – показники морфофункціонального стану щитоподібної залози в організмі тварин-реципієнтів до та після введення алогенних мезенхімних стовбурових клітин.

**Методи дослідження:** клінічні, біохімічні (визначення в сироватці крові холестеролу, глюкози), гормональні (визначення рівня вільного тироксину, трийодтироніну, тиреотропного гормону), гістологічні (виготовлення та фарбування зрізів, мікроскопія) та статистичні.

**Наукова новизна одержаних результатів.** Вперше досліджено вплив алогенних мезенхімних стовбурових клітин на перебіг репаративних процесів у щитоподібній залозі щурів за експериментального гіпотиреозу, а також у собак та котів за спонтанного гіпотиреозу. Вперше проведено випробування ефективності різних методів трансплантації алогенних мезенхімних стовбурових клітин (в порожнину серця, внутрішньовенно і безпосередньо в щитоподібну залозу).

Використання комплексного підходу до оцінки змін в організмі тварин за гіпотиреозу (динаміка показників гормональних та біохімічних досліджень сироватки крові) і безпосередньо в тканині щитоподібної залози (за зміною показників макроскопічних та гістологічних досліджень) дозволило отримати достовірні результати для оцінки особливостей цих змін на всіх періодах відновлення функціонального стану залози.

Встановлено, що за впливу трансплантованих алогенних мезенхімних стовбурових клітин достовірно підвищується активність репаративних процесів

у щитоподібній залозі тварин, на що вказує в кінці досліду (90 доба спостережень) нормалізація біохімічних (вміст глюкози, холестерину) та гормональних показників (вміст гормонів вТ<sub>4</sub>, вТ<sub>3</sub>, ТТГ, паратгормону, кальцитоніну) сироватки крові і гістологічні зміни в ушкодженій залозі.

Зокрема, за введення аlogenних мезенхімних стовбурових клітин безпосередньо в експериментально ушкоджену щитоподібну залозу процеси відновлення на всіх етапах регенерації більш інтенсивно виражені, ніж після трансплантації їх внутрішньовенно, в порожнину серця та традиційного методу лікування.

Наукову новизну досліджень підтверджено патентами на корисні моделі «Спосіб моделювання гіпотиреозу у щурів» та «Спосіб активізації відновлювальних процесів з відновленням структури ушкодженої щитоподібної залози за гіпотиреозу у тварин мезенхімними стовбуровими клітинами».

**Практичне значення одержаних результатів.** Отримані результати можуть бути використані в експериментальній роботі для подальшого вивчення властивостей аlogenних та ксеногенних мезенхімних стовбурових клітин, трансплантованих в організм тварин-реципієнтів та в клінічній практиці як один із альтернативних методів лікування тварин за гіпотиреозу.

Результати експериментальних досліджень і клінічного випробування використовуються в навчальному процесі та наукових дослідженнях кафедр закладів вищої освіти України: хірургії і патофізіології імені академіка І. О. Поваженка та анатомії, гістології і патоморфології тварин імені академіка В. Г. Касьяненка Національного університету біоресурсів і природокористування України; нормальної та патологічної фізіології Національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького; нормальної та патологічної фізіології сільськогосподарських тварин Білоцерківського національного аграрного університету; анатомії, нормальної та патологічної фізіології Сумського національного аграрного університету; фізіології та біохімії сільськогосподарських тварин Дніпровського державного аграрно-економічного університету.

**Особистий внесок здобувача.** Здобувачем самостійно проведено пошук і аналіз літературних джерел за темою дисертації, виконано увесь обсяг експериментальних досліджень (моделювання експериментального гіпотиреозу у щурів, формування груп дослідних тварин для проведення експериментів на лабораторних тваринах; випробування ефективності методу на собаках і котах за гіпотиреозу спонтанного походження; отримання аlogenних стовбурових клітин і трансплантація їх тваринам-реципієнтам різними шляхами; відбір зразків крові і щитоподібної залози для аналізів), проведено статистичну обробку цифрових показників, підготовлено ілюстративні матеріали.

Спільно з науковим керівником визначено мету, завдання роботи, схему дослідів та способи їх вирішення, аналіз одержаних результатів і формулювання висновків. Із результатів досліджень і публікацій із співавторами, за їх згодою, використано лише ті результати, які одержано особисто здобувачем.

**Апробація результатів дисертації.** Матеріали дисертації доповідалися та отримали позитивну оцінку на: науково-практичній конференції «Актуальні проблеми фізіології і патофізіології тварин» (м. Київ, 2015 р.); XV Всеукраїнській науково-практичній конференції молодих вчених «Молоді вчені у вирішенні актуальних проблем біології, тваринництва та ветеринарної медицини» (м. Львів, 2016 р.); Міжнародній науково-практичній конференції присвяченій 95-річчю Дніпровського державного аграрно-економічного університету та 110-річчю від дня народження професора Л. А. Христової «Досягнення та перспективи застосування гумінових речовин у сільському господарстві» (м. Дніпро, 2017 р.); VII Міжнародній науково-практичній конференції «Ветеринарні препарати: розробка, контроль якості та застосування» (м. Львів, 2017 р.).

**Публікації.** За результатами досліджень опубліковано 13 наукових праць, з яких 4 статті у наукових фахових виданнях України, 3 статті у наукових фахових виданнях України, включених до міжнародних наукометричних баз даних, стаття в іншому науковому виданні, 2 патенти на корисну модель, науково-методичні рекомендації та 2 тези наукових доповідей.

**Структура та обсяг дисертації.** Дисертація складається з анотацій, вступу, чотирьох розділів, висновків, пропозицій виробництву, списку використаних джерел і додатків. Дисертацію викладено на 169 сторінках. Матеріали дисертації проілюстровано 11 таблицями, двома схемами та 29 рисунками. Список використаних джерел містить 233 найменування, у тому числі 95 латиницею.

## ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

**Вибір напрямів досліджень, матеріали та методи досліджень.** Дослідження проведено впродовж 2014–2018 рр. в умовах навчально-наукової лабораторії «Центр клітинних технологій у ветеринарній медицині» кафедри хірургії і патофізіології імені академіка І. О. Поваженка Національного університету біоресурсів і природокористування України. Окремі фрагменти досліджень виконано в Інституті ендокринології та обміну речовин імені В. П. Комісаренка Національної академії медичних наук України.

Дослідження проведено в три етапи:

- 1) моделювання гіпотиреозу у щурів;
- 2) дослідження активності відновлювальних процесів у щитоподібній залозі за впливу алогенних мезенхімних стовбурових клітин та за традиційних методів лікування (тироксином);
- 3) клінічні випробування методу застосування алогенних мезенхімних стовбурових клітин для відновлення функціональної здатності щитоподібної залози у собак і котів за спонтанного гіпотиреозу.

На *першому етапі* для моделювання гіпотиреозу використано 60 білих щурів, яким упродовж 65 діб випоювали з водою 1 % розчин перхлорат калію (хлорнокислий калій). На 65 добу досліду 15 тварин із експериментальним

гіпотиреозом виводили із дослідів шляхом евтаназії для отримання зразків тканини, проб крові для аналізів.

На початку *другого етапу* (вихідний стан) сформовано 5 груп білих щурів із експериментальним гіпотиреозом, в кожній групі по 12 тварин. Тваринам першої групи (контроль) вводили ізотонічний розчин NaCl, другої групи – мезенхімні стовбурові клітини в порожнину серця, третьої групи – мезенхімні стовбурові клітини безпосередньо в щитоподібну залозу і четвертої групи – мезенхімні стовбурові клітини внутрішньовенно. Тваринам п'ятої групи назначали традиційне лікування (задавали тироксин, замісна терапія).

Через 20 діб, 40, 60 та 90 діб спостережень фіксували клінічний стан, масу тіла кожної тварини та відбирали проби крові, з якої отримували сироватку та зразки тканин для аналізів.

Упродовж всього періоду досліджень під спостереженням знаходилася шоста дослідна група – інтактні тварини, у яких в установлений період також фіксували клінічні показники та відбирали необхідний матеріал для лабораторних досліджень.

В експерименті використано білих безпородних щурів з початковою масою тіла 100–110 г. У клінічних випробуваннях використано п'ять безпородних собак і трьох котів.

Матеріалом для лабораторних досліджень були проби сироватки крові, а також зразки щитоподібної залози, які використовували для виготовлення гістопрепаратів.

Для отримання необхідної кількості алогенних мезенхімних стовбурових клітин із кісткового мозку було використано донорів 60 щуренят тижневого віку, одного безпородного пса та одного kota. Кістковий мозок для отримання мезенхімних стовбурових клітин відбирали у тварин за методами, розробленими співробітниками Національного університету біоресурсів і природокористування України (Мазуркевич А. Й. та ін. «Клітинні технології у ветеринарній медицині», Київ, 2014).

Утримання тварин та використання їх у дослідженнях здійснювалися відповідно до вимог Директиви Європейського союзу 2010/63 (2010) щодо гуманного відношення до тварин та статті 26 Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження».

Статистичну обробку отриманих цифрових даних здійснювали за допомогою пакету статистичних програм Microsoft Excel.

Результати візуальних досліджень (стан моношару за культивування мезенхімних стовбурових клітин, результати гістологічних досліджень, загальний вигляд тварин та щитоподібної залози) фіксували за допомогою фотоапарата Samsung Digimax x8.

## РЕЗУЛЬТАТИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

**Дослідження динаміки вмісту тиреоїдних гормонів у щурів за експериментального гіпотиреозу.** Вивчення динаміки змін у щитоподібній залозі та відповідних змін в цілісному організмі залежно від морфо-

функціонального стану цієї залози здійснювали із урахуванням ролі щитоподібної залози у регулюванні цілого ряду життєво важливих процесів (ріст і розвиток організму, утворення гормону росту гіпофізом, засвоєння кальцію, енергетичний та ліпідний обмін, еритроцитопоез, діяльність серцево-судинної системи, життєвий тонус, рівень і баланс естрогенів та прогестерону в організмі тощо).

Функціональну активність щитоподібної залози за експериментального гіпотиреозу визначали за змінами показників активності тироксину, трийодтироніну та ряду інших гормонів.

**Динаміка вмісту вільного тироксину.** У вихідному стані (на 65 добу моделювання гіпотиреозу) вміст вільного тироксину в сироватці крові щурів 1–5 дослідних груп був достовірно нижчий у 3,5 раза проти цього показника у крові інтактних тварин, що свідчить про значне зниження функціональної активності щитоподібної залози (табл. 1).

Таблиця 1

**Динаміка вмісту вільного тироксину в сироватці крові щурів  
із експериментальним гіпотиреозом за впливу алогенних мезенхімних  
стовбурових клітин, мкмоль/л ( $M \pm m$ ;  $n=3$ )**

№	Метод лікування		Вихідний стан	Після трансплантації МСК			
				20 доба	40 доба	60 доба	90 доба
1	Введення	Ізотонічний розчин NaCl (контроль)	11,7±0,5	10,6±0,3	10,5±0,6	10,1±0,1	10,1±0,4
2		МСК у порожнину серця		13,7±0,4**	16,8±0,3**	21,2±0,5***	23,9±0,9***
3		МСК у щитоподібну залозу		13,6±0,4**	18,6±0,6**	21,4±0,5***	26,0±0,9***
4		МСК внутрішньовенно		14,0±0,3	14,8±0,4*	16,8±0,3**	20,5±0,4***
5		Традиційне лікування		10,4±0,3	11,8±0,4	13,8±0,3**	16,5±0,3**
6	Інтактні тварини		41,2±0,8	41,2±0,2	41,2±0,3	41,2±0,6	41,2±0,7

Примітка. Тут і у табл. 2–8 МСК – мезенхімні стовбурові клітини; \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$  вірогідні дані, порівнюючи з їх значеннями у тварин контрольної групи; у вихідному стані – порівнюючи з інтактними тваринами

Після трансплантації алогенних мезенхімних стовбурових клітин вміст вільного тироксину поступово збільшувався і на 90 добу досліду був вірогідно вищим у сироватці крові тварин 2–4 дослідних груп відповідно у 2,4 раза, 2,6 та 2,0 раза проти цього показника у тварин контрольної групи. Найвищий вміст встановлено у тварин 3 дослідної групи, яким вводили мезенхімні стовбурові клітини безпосередньо у щитоподібну залозу. У тварин 2 та 4 дослідних груп цей показник був нижчим. Після задавання тироксину (традиційне лікування, дослідна група 5) вміст вільного тироксину в сироватці крові був ще нижчим, але достовірно перевищував цей показник у тварин контрольної групи в 1,6 раза.

**Динаміка вмісту вільного трийодтироніну.** Результати дослідження вмісту трийодтироніну (табл. 2) засвідчують, що у вихідному стані (65 доба моделювання гіпотиреозу) вміст його в сироватці крові дослідних тварин в 1,5 раза нижчий, порівнюючи з цим показником у інтактних тварин, що також вказує на зниження функціональної здатності щитоподібної залози.

Таблиця 2

**Динаміка вмісту вільного трийодтироніну в сироватці крові щурів за гіпотиреозу, мкмоль/л ( $M \pm m$ ;  $n=3$ )**

№	Метод лікування		Вихідний стан	Після трансплантації МСК			
				20 доба	40 доба	60 доба	90 доба
1	Введення	Ізотонічний розчин NaCl (контроль)	14,0±0,6	14,0±0,2	15,0±0,6	15,0±0,1	15,1±0,5
2		МСК у порожнину серця		14,0±0,1	15,5±0,4	18,3±0,3**	19,0±0,8*
3		МСК у щитоподібну залозу		14,4±0,3	15,7±0,4	18,3±0,3**	19,8±0,4*
4		МСК внутрішньовенно		14,4±0,4	14,5±0,4	15,8±0,3*	17,6±0,4*
5		Традиційне лікування		14,5±0,1*	15,5±0,3*	16,1±0,7**	17,0±0,3
6	Інтактні тварини		21,6±0,8	21,6±0,4	21,6±0,8	21,6±0,8	21,6±0,8

Примітка. \*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$  вірогідні дані, порівнюючи з їх значеннями у тварин контрольної групи; у вихідному стані – порівнюючи з інтактними тваринами

Вміст трийодтироніну в сироватці крові тварин 2–4 дослідних груп на 90 добу після введення алогенних мезенхімних стовбурових клітин сягав 17,6–19,8 мкмоль/л, що достовірно вище, ніж показник у тварин першої (контрольної) та 5 дослідної (традиційне лікування) груп. Найвищий рівень трийодтироніну зареєстровано в сироватці крові тварин 3 дослідної групи, яким вводили мезенхімні стовбурові клітини безпосередньо в щитоподібну залозу.

Нижчу ефективність у відновленні ураженої щитоподібної залози показав метод введення мезенхімних стовбурових клітин у порожнину серця та внутрішньовенно. Водночас, вміст трийодтироніну був вищий, ніж у тварин 5 дослідної групи (традиційне лікування).

Отже, підвищення рівня трийодтироніну в сироватці крові щурів після введення алогенних мезенхімних стовбурових клітин свідчить про те, що перебіг регенеративних процесів в ушкодженій щитоподібній залозі та відновлення її функціональної здатності відбувається інтенсивніше, ніж у тварин контрольної групи та ніж за традиційного лікування. Найвищий показник відновлення активності трийодтироніну, як і у випадку із вільним тироксином, спостерігався у тварин після введення алогенних мезенхімних стовбурових клітин безпосередньо у щитоподібну залозу.

**Динаміка вмісту кальцитоніну.** Як відомо, кальцитонін утворюється і секритується С-клітинами (парафолікулярні клітини) щитоподібної залози. Основна роль кальцитоніну полягає у регуляції обміну кальцію і, зокрема,

спрямована на зниження рівня  $\text{Ca}^{2+}$  у крові. Кальцитонін є антагоністом паратгормону, пригнічує активність остеобластів кістки, тобто впливає на кальцинацію кісток. Важливо було з'ясувати, якою мірою експериментальний гіпотиреоз впливає на функціональний стан парафолікулярних клітин.

Результати дослідження свідчать про те, що у вихідному стані вміст кальцитоніну у сироватці крові тварин усіх дослідних груп достовірно менший, ніж у інтактних тварин (табл. 3).

Таблиця 3

**Динаміка вмісту кальцитоніну в сироватці крові щурів  
за експериментального гіпотиреозу, мкмоль/л ( $M \pm m$ ;  $n=3$ )**

№	Метод лікування		Вихідний стан	Після трансплантації МСК			
				20 доба	40 доба	60 доба	90 доба
1	Введення	Ізотонічний розчин NaCl (контроль)	12,0±0,01	12,0±0,6	12,5±0,4	12,5±0,8	12,5±0,4
2		МСК у порожнину серця		12,3±0,3	12,9±0,3	13,4±0,4	14,1±0,6*
3		МСК у щитоподібну залозу		12,9±0,9	13,6±0,9	14,3±0,3*	15,5±0,3*
4		МСК внутрішньовенно		12,7±0,3	13,3±0,8	14,3±0,3*	14,8±0,4*
5		Традиційне лікування		12,4±0,3	11,8±0,8	13,5±0,3	13,9±0,3
6	Інтактні тварини		18,7±0,3	18,7±0,3	18,7±0,4	18,7±0,4	18,7±0,3

Примітка. \* $p < 0,05$  вірогідні дані, порівнюючи з їх значеннями у тварин контрольної групи; у вихідному стані – порівнюючи з інтактними тваринами

На 90 добу після застосування алогенних мезенхімних стовбурових клітин рівень кальцитоніну в сироватці крові у тварин 2–4 дослідних груп був вірогідно вищим на 12,8–24,0 % проти цього показника у щурів контрольної групи.

Водночас, вміст його в крові щурів 5 групи (традиційне лікування) на 90 добу мав лише тенденцію до збільшення, що доводить перевагу методу застосування алогенних мезенхімних стовбурових клітин у відновленні структури та функції експериментально ушкодженої щитоподібної залози.

Отже, за експериментального гіпотиреозу (вихідний стан) спостерігається різке зниження функціональної активності щитоподібної залози, про що свідчить вірогідне зниження вмісту в крові гормонів вільного тироксину, вільного трийодтироніну та кальцитоніну. За впливу трансплантованих алогенних мезенхімних стовбурових клітин вміст цих гормонів достовірно збільшується, що свідчить про відновлення функціональної активності щитоподібної залози, Найбільш активно вона відновлюється після введення клітин безпосередньо у щитоподібну залозу.

**Динаміка вмісту тиреотропного гормону.** Результати дослідження активності тиреотропного гормону в сироватці крові білих щурів свідчать про те, що на 65 добу моделювання гіпотиреозу (вихідний стан) вміст тиреотропного гормону був достовірно вищим у 3 рази, порівнюючи з

показником у сироватці крові інтактних тварин, що, очевидно, є реакцією цілісного організму тварини на зниження функціонального стану щитоподібної залози (табл. 4).

Таблиця 4

**Динаміка вмісту тиреотропного гормону в сироватці крові щурів за експериментального гіпотиреозу, мкмоль/л ( $M \pm m$ ;  $n=3$ )**

№	Метод лікування		Вихідний стан	Після трансплантації МСК			
				20 доба	40 доба	60 доба	90 доба
1	Введення	Ізотонічний розчин NaCl (контроль)	31,8±1,0	32,2±1,2	32,7±0,4	32,8±0,8	32,8±0,7
2		МСК у порожнину серця		30,4±0,4	29,5±0,4*	27,4±0,4*	25,1±0,1*
3		МСК у щитоподібну залозу		32,6±0,2	30,8±0,5*	27,6±0,7*	20,5±0,2**
4		МСК внутрішньовенно		31,8±0,4	31,5±0,4	30,2±0,0	28,9±0,4*
5		Традиційне лікування		32,9±0,8	30,4±0,4	30,2±0,1	30,2±0,1*
6	Інтактні тварини		10,5±0,4	10,5±0,4	10,5±0,4	10,5±0,4	10,5±0,4

Примітка. \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$  вірогідні дані, порівнюючи з їх значеннями у тварин контрольної групи; у вихідному стані – порівнюючи з інтактними тваринами

На 90 добу після введення алогенних мезенхімних стовбурових клітин рівень тиреотропного гормону у крові тварин 2–4 дослідних груп, в міру підвищення вмісту вільного тироксину та трийодтироніну, знижувався до 29,5–28,9 мкмоль/л, що достовірно нижче на 11,9–27,5 % проти цього показника на контролі.

Оскільки, рівень тиреотропного гормону гіпофіза в сироватці крові тварин має зворотний зв'язок із рівнем гормонів щитоподібної залози, динаміка його вмісту до та після застосування алогенних мезенхімних стовбурових клітин вказує на відновлення функціональної активності ушкодженої щитоподібної залози.

**Зміни вмісту глюкози в сироватці крові.** Як відомо, за гіпотиреозу в організмі тварин на фоні зниженого рівня тиреоїдних гормонів гальмуються процеси всмоктування вуглеводів у кишечнику. Тому визначення цього показника має діагностичне значення як допоміжний діагностичний тест у діагностиці гіпотиреозу.

Наведені в табл. 5 показники свідчать про те, що у тварин за експериментального гіпотиреозу у вихідному стані вміст глюкози в крові зареєстрований на рівні 7,20 ммоль/л, що вірогідно в 1,7 раза менше проти цього показника у інтактних тварин (12,40 ммоль/л).

Після введення алогенних мезенхімних стовбурових клітин рівень глюкози в крові дослідних тварин поступово підвищувався і на 90 добу складав 8,10–8,96 ммоль/л, що вірогідно вище на 10–21,6 %, ніж показник у тварин контрольної групи. Найвиразніший ефект проявився у тварин 3 дослідної

групи, яким вводили мезенхімні стовбурові клітини безпосередньо у щитоподібну залозу.

Таблиця 5

**Динаміка вмісту глюкози в сироватці крові щурів із експериментальним гіпотиреозом за впливу алогенних мезенхімних стовбурових клітин, ммоль/л ( $M \pm m$ ;  $n=3$ )**

№	Метод лікування		Вихідний стан	Після трансплантації МСК			
				20 доба	40 доба	60 доба	90 доба
1	Введення	Ізотонічний розчин NaCl (контроль)	7,20±0,07	7,22±0,05	7,33±0,10	7,33±0,04	7,37±0,04
2		МСК у порожнину серця		7,31±0,03	7,47±0,07	7,89±0,07**	8,26±0,03**
3		МСК у щитоподібну залозу		7,91±0,08*	8,17±0,01**	8,83±0,02**	8,96±0,01**
4		МСК внутрішньовенно		7,40±0,07*	7,49±0,09	7,80±0,09**	8,10±0,05**
5		Тироксин (традиційне лікування)		7,22±0,01	7,42±0,01	7,51±0,07*	7,79±0,09**
6	Інтактні тварини		12,40±0,81	12,42±0,42	12,41±0,40	12,42±0,42	12,42±0,41

Примітка. \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$  вірогідні дані, порівнюючи з їх значеннями у тварин контрольної групи; у вихідному стані – порівнюючи з інтактними тваринами

Отже, введення алогенних мезенхімних стовбурових клітин для відновлення морфофункціональних властивостей щитоподібної залози призводить до поступового підвищення вмісту глюкози. Найвищий результат отримано у тварин 3 дослідної групи, яким мезенхімні стовбурові клітини вводили безпосередньо у щитоподібну залозу.

**Динаміка вмісту холестеролу в сироватці крові.** Як відомо, за гіпотиреозу у тварин виникає порушення ліпідного обміну, яке супроводжується підвищенням рівня холестеролу в крові. У дослідженнях було важливо підтвердити цей факт та одночасно за динамікою цього показника визначити рівень відновлення функціональної здатності експериментально ушкодженої щитоподібної залози.

Як видно із даних, наведених у табл. 6, вміст холестеролу в сироватці крові тварин на 65 добу моделювання гіпотиреозу (вихідний стан) був вірогідно вищий у 3,69 рази, ніж у інтактних тварин.

Після застосування алогенних мезенхімних стовбурових клітин у період з 20 по 90 добу відмічалася поступове зниження вмісту холестеролу у сироватці крові тварин 2–4 дослідних груп до 3,89–4,08 ммоль/л. У тварин дослідної групи, яким вводили алогенні мезенхімні стовбурові клітини безпосередньо в щитоподібну залозу (3 дослідна група), достовірне зниження вмісту холестеролу в сироватці крові в кінці дослідження складало 24 % (3,89 ммоль/л) проти цього показника у тварин контрольної групи (4,82 ммоль/л). Це вказує на тісний зв'язок досліджуваного показника із функціональним станом щитоподібної залози. За методу введення мезенхімних стовбурових клітин

безпосередньо у щитоподібну залозу отримано найвищий ефект. Водночас, повного відновлення цього показника, як і інших показників, до рівня у інтактних тварин не відбулося.

Таблиця 6

**Динаміка вмісту холестеролу в сироватці крові щурів  
із експериментальним гіпотиреозом за впливу алогенних мезенхімних  
стовбурових клітин, ммоль/л ( $M \pm m$ ;  $n=3$ )**

№	Метод лікування		Вихідний стан	Після трансплантації МСК			
				20 доба	40 доба	60 доба	90 доба
1	Введення	Ізотонічний розчин NaCl (контроль)	4,83±0,01	4,82±0,01	4,82±0,01	4,82±0,01	4,82±0,01
2		МСК у порожнину серця		4,70±0,03**	4,61±0,01**	4,31±0,05**	4,08±0,02*
3		МСК у щитоподібну залозу		4,40±0,03**	4,20±0,03**	4,00±0,05**	3,89±0,05***
4		МСК внутрішньовенно		4,71±0,01**	4,24±0,01**	4,04±0,02**	3,99±0,02*
5		Тироксину (традиційне лікування)		4,76±0,03*	4,57±0,05**	4,38±0,07**	4,25±0,03**
6	Інтактні тварини		1,31±0,01	1,30±0,02	1,31±0,01	1,30±0,01	1,31±0,02

Примітка. \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$  вірогідні дані, порівнюючи з їх значеннями у тварин контрольної групи; у вихідному стані – порівнюючи з інтактними тваринами

Ефективність стимулювання регенеративних процесів у патологічно зміненій щитоподібній залозі за інших способів введення мезенхімних стовбурових клітин займає проміжне місце. Зокрема, спосіб введення мезенхімних стовбурових клітин внутрішньовенно (4 дослідна група) відповідно в 1,2 раза нижче цього ж показника у тварин контрольної групи. Найменш ефективний метод введення мезенхімних стовбурових клітин в порожнину серця (2 дослідна група), відповідно в 1,18 раза менше проти контрольної групи.

**Динаміка маси щитоподібної залози та тіла щурів.** Як відомо, маса тіла тварин значною мірою залежить від функціонування щитоподібної залози і може змінюватися як у бік зростання, так і в бік її зниження залежно від ступеня, характеру та складності порушень її функціонального стану. Із врахуванням цього показника використано показник маси тіла щурів для встановлення залежності динаміки цих показників всіх дослідних груп від функціонального стану щитоподібної залози.

Як видно із результатів, наведених у табл. 7, маса тіла тварин дослідних груп у вихідному стані в середньому на 73,4 г або на 33,3 % менша проти цього показника в інтактних тварин. Після введення алогенних мезенхімних стовбурових клітин маса тіла тварин вірогідно зростала і на 90 добу була більшою на 12 та 16 % проти показника у тварин контрольної групи. Різниця в показниках у тварин 2, 3 та 4 груп була незначною, але нижчою на 42,2 % проти цього показника в інтактних тварин.

**Динаміка маси тіла щурів після введення мезенхімних стовбурових клітин за гіпотиреозу, г ( $M \pm m$ ;  $n=3$ )**

№	Метод лікування		Вихідний стан	Після трансплантації МСК			
				20 доба	40 доба	60 доба	90 доба
1	Введення	Ізотонічний розчин NaCl (контроль)	134,3±1,0	136,0±0,6	137,7±1,0	137,3±0,6	137,7±1,2
2		МСК у порожнину серця		137,7±1,0	140,01±0,6	142,7±1,0**	163,0±1,7**
3		МСК у щитоподібну залозу		137,3±1,0	143,3±0,8*	148,0±0,6**	164,0±1,2***
4		МСК внутрішньовенно		139,0±0,6	144,3±1,0**	147,7±1,0**	163,8±1,6***
5		Традиційне лікування		134,8±1,0	135,3±0,4*	138,0±0,6	141,7±1,0*
6	Інтактні тварини		207,7±1,6	214,4±2,5	234,3±1,6	241,0±0,6	283,7±1,6

Примітка. \*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$ ; \*\*\*  $p < 0,001$  вірогідні дані, порівнюючи з їх значеннями у тварин контрольної групи; у вихідному стані – порівнюючи з інтактними тваринами

У тварин дослідної групи, яким застосовували традиційне лікування (тироксин) різниця з показниками тварин контрольної групи була найменшою.

Отже, експериментальний гіпотиреоз у щурів супроводжується достовірним зниженням маси тіла піддослідних тварин, про що свідчить різниця між показниками живої ваги тварин дослідної групи з традиційним лікуванням та контрольної групи.

Застосування алогенних мезенхімних стовбурових клітин більшою мірою сприяє відновленню маси тіла тварин, ніж застосування замісної терапії.

Маса щитоподібної залози має прямий зв'язок із інтенсивністю утворення тироксину, що своєю чергою залежить від рівня надходження йоду в організм, а також його засвоєння.

Наведені у табл. 8 дані свідчать, що маса щитоподібної залози дослідних тварин у вихідному стані була вірогідно вищою у 3,3 раза порівняно з показником у інтактних тварин. Оскільки у тварин 1–5 дослідних груп такі зміни є наслідком ушкодження залози перхлоратом калію, то різницю у масі залози у тварин 1–5 дослідних груп та інтактними тваринами можна пояснити патологічними змінами, зумовленими впливом цього препарату.

Після введення алогенних мезенхімних стовбурових клітин маса щитоподібної залози у тварин 2–4 дослідних груп впродовж 90 діб вірогідно знижувалася з різною інтенсивністю. У тварин 3 дослідної групи, яким вводили мезенхімні стовбурові клітини безпосередньо в щитоподібну залозу, інтенсивність зниження абсолютної маси щитоподібної залози була вищою, ніж у тварин 2 та 4 дослідних груп. Однак, у тварин 5 групи (замісна терапія) маса щитоподібної залози знижувалася повільно і практично не відрізнялася від цього показника у тварин контрольної групи. Очевидно, замісна терапія, яка

дозволяє підтримувати рівень тироксину в організмі, надто повільно стимулює відновлювальні процеси в ушкодженій щитоподібній залозі тварини.

Таблиця 8

**Динаміка маси щитоподібної залози щурів за експериментального гіпотиреозу та після застосування мезенхімних стовбурових клітин, г ( $M \pm m$ ; n=3)**

№	Метод лікування		Вихідний стан	Після трансплантації МСК			
				20 доба	40 доба	60 доба	90 доба
1	Введення	Ізотонічний розчин NaCl (контроль)	0,059±0,03	0,059±0,04	0,059±0,04	0,059±0,03	0,059±0,01
2		МСК у порожнину серця		0,052±0,07	0,051±0,02*	0,048±0,02*	0,041±0,05*
3		МСК у щитоподібну залозу		0,051±0,02*	0,050±0,01**	0,048±0,03**	0,040±0,01**
4		МСК внутрішньовенно		0,053±0,02	0,051±0,02*	0,050±0,01*	0,042±0,01*
5		Традиційне лікування		0,058±0,02	0,058±0,02	0,057±0,01	0,057±0,02*
6	Інтактні тварини		0,018±0,04	0,018±0,04	0,018±0,07	0,018±0,01	0,018±0,02

Примітка. \*p<0,05; \*\*p<0,01; \*\*\*p<0,001 вірогідні дані, порівнюючи з їх значеннями у тварин контрольної групи; у вихідному стані – порівнюючи з інтактними тваринами

**Особливості мікроскопічної будови щитоподібної залози.** Проведеними гістологічними дослідженнями встановлено, що на 65 добу моделювання гіпотиреозу (вихідний стан) спостерігалися виразні зміни мікроскопічної будови щитоподібної залози, яка, проте, зберігала притаманну їй часточкову будову.

Строма залози виразно набрякла, вени і венули та капіляри – розширені й переповнені клітинами крові, що свідчило про венозний застій. Лише поодинокі фолікули зберігали характерну мікроскопічну будову. Проте, навіть у цих фолікулах у більшості випадків колоїд не фарбувався. Це може свідчити про значну гіперфункцію тих фолікулів, які ще були здатні продукувати притаманні щитоподібній залозі гормони, оскільки за гіперфункції цієї залози вміст колоїду у фолікулах зменшується.

У більшості фолікулів спостерігали відокремлення (відшаровування) фолікулярних клітин від базальної мембрани, а також гідропічну дистрофію частини фолікулярних клітин та руйнування клітин, як таких, що відокремилися у просвіт фолікулу, так і частини клітин, які залишалися на базальній мембрані. В частині випадків фолікулярні клітини, що відокремилися від базальної мембрани у просвіт фолікулу, некротизовані.

Руйнування та відокремлення від базальної мембрани значної кількості фолікулярних клітин призводило до того, що клітини, які залишалися ще інтактними та не втрачали зв'язку з базальною мембраною, витягувалися вздовж останньої, набуваючи сильно витягнутої веретеноподібної форми.

Цитоплазматичні вакуолі, характерні для клітин фолікулярного епітелію інтактних тварин, переважно епітеліоцитів щурів, за експериментального гіпотиреозу не виявлялися. На нашу думку, це свідчить про часткове чи майже повне припинення синтезу гормонів цими клітинами.

Також реєструвалися дистрофічні зміни (зерниста та гідропічна дистрофія) та руйнування парафолікулярних клітин.

Отже, за експериментального гіпотиреозу відбуваються виразні зміни мікроскопічної будови щитоподібної залози, які призводять до значного порушення синтезу гормонів тироксину, трийодтироніну та кальцитоніну, оскільки майже не лишається неушкоджених клітин, здатних продукувати ці гормони.

Після введення алогенних мезенхімних стовбурових клітин гістологічні зміни в щитоподібній залозі, спрямовані на відновлення структури органу, найбільш виразно проявилися у тварин 3 дослідної групи, яким вводили мезенхімні стовбурові клітини безпосередньо в щитоподібну залозу. Вже на 20 добу в ній лишалися лише поодинокі дистрофічно змінені, зруйновані чи некротизовані фолікулярні клітини. набряк строми був помірним, розростання щільної волокнистої тканини – незначні. Кровоносні судини строми були розширені, але їх переповнення клітинами крові не реєструвалось – гематокрит не був порушений. У часточках виявлялася велика кількість сформованих фолікулів, які активно функціонували, про що свідчить наявність вакуолей у цитоплазмі їх фолікулярних клітин. Проте, в цей період ще не вдається чітко диференціювати міжфолікулярні острівці. Імовірно, цьому заважала велика кількість проліферуючих клітин і ще недостатньо впорядкована будова часточок щитоподібної залози, що могло маскувати такі острівці.

Вже на 40 добу після введення мезенхімних стовбурових клітин безпосередньо в щитоподібну залозу (3 дослідна група) в ній виявлялися лише відносно невеликі вогнища проліферації клітин, на більшості ділянок органу реєструвалися вже добре сформовані фолікули, в яких реєструвалися не тільки морфологічні ознаки секреції фолікулярних клітин, у частині таких фолікулів починав зафарбовуватися (хоча ще й дуже слабо) колоїд; досить чітко диференціювалися міжфолікулярні острівці, які, проте, ще перебували в процесі свого формування.

На 60 добу в залозі ще виявлялися невеликі осередки проліферації клітин та фолікули на стадії свого формування. Міжфолікулярні острівці гіпертрофовані за рахунок гіперплазії їх клітин. В усіх часточках реєструвалася велика кількість сформованих фолікулів з ознаками гіперсекреції їх фолікулярних клітин. Проте, ці фолікули ще були досить гетерогенними – відрізнялися за своїми розмірами та формою. У просвіті багатьох із них виявлявся секрет, який нерідко мав пінистий вигляд.

На 90 добу після введення мезенхімних стовбурових клітин безпосередньо в щитоподібну залозу її мікроскопічна будова майже не відрізнялася від такої в контрольних тварин, за винятком відносно незначної проліферації клітин.

Процес відновлення мікроскопічної структури щитоподібної залози за введення в порожнину серця тривав дещо повільніше, ніж при введенні алогенних мезенхімних стовбурових клітин внутрішньовенно, і на 90 добу в стромі все ще виявляли набряк і ознаки склерозу, хоча мікроскопічна будова часточок вже була досить наближеною до такої в нормі.

Отже, за результатами проведених гістологічних досліджень встановлено, що за експериментального гіпотиреозу будь-яким способом процеси відновлення структури щитоподібної залози прискорюються значно активніше після застосування мезенхімних стовбурових клітин, ніж в групі тварин із традиційним методом лікування. Найбільш ефективним виявилось введення мезенхімних стовбурових клітин безпосередньо в щитоподібну залозу.

**Ефективність застосування алогенних мезенхімних стовбурових клітин за спонтанного гіпотиреозу.** Як відомо, гіпотиреоз у собак та котів супроводжується недостатнім рівнем гормонів щитоподібної залози або повною їх відсутністю, внаслідок чого гальмується інтенсивність обмінних процесів у тварин, а за важких форм його перебігу може призвести до незворотних змін в організмі та до тиреоїдної коми.

Для вивчення ефективності впливу трансплантованих алогенних мезенхімних стовбурових клітин на активність перебігу відновлювальних процесів у щитоподібній залозі хворим тваринам після встановлення діагнозу безпосередньо в щитоподібну залозу під контролем апарату для ультразвукової діагностики вводили 4–6 млн алогенних мезенхімних стовбурових клітин.

Як видно із даних, наведених у табл. 9, показники вмісту вільного тироксину в сироватці крові собак за гіпотиреозу у вихідному стані були вірогідно нижчі у 2,6–8,6 раза проти фізіологічних параметрів, що стверджує про функціональну недостатність щитоподібної залози.

Таблиця 9

**Вміст вільного тироксину у сироватці крові собак хворих на гіпотиреоз, після трансплантації мезенхімних стовбурових клітин, мкмоль/л.  $M \pm m$ ; собаки (n=5); коти (n=3);**

Група тварин	Вміст вільного тироксину після трансплантації мезенхімних стовбурових клітин					
	Фізіологічні параметри		Вихідний стан	20 доба	40 доба	90 доба
1	Собаки	15,0–50,0	5,8±0,4	6,8±0,4	8,4±0,3**	13,6±0,3**
2	Коти		10,6±0,3	12,2±0,5	13,6±0,8**	16,3±0,7**

Примітка. \*\*  $p < 0,01$  вірогідні дані, порівнюючи з їх значеннями у тварин вихідного стану

На 90 добу досліджень після трансплантації алогенних мезенхімних стовбурових клітин безпосередньо в щитоподібну залозу спостерігається зростання вмісту вільного тироксину; його рівень становив 13,6 мкмоль/л, що вірогідно вище у 2,34 раза проти цього показника у вихідному стані. Водночас, як і за експериментального гіпотиреозу, на цей час після введення мезенхімних стовбурових клітин рівень гормону ще не досягав фізіологічних параметрів.

Отже, у собак із спонтанним гіпотиреозом після введення алогенних мезенхімних стовбурових клітин безпосередньо в щитоподібну залозу відбувається зростання вільного тироксину, яке на 90 добу становить вже 42,6 % порівняно з цим показником за фізіологічних умов.

Результати дослідження вмісту вільного тироксину в сироватці крові котів за спонтанного гіпотиреозу після введення їм алогенних мезенхімних стовбурових клітин відображено в табл. 9. Як видно із наведених показників, вміст вільного тироксину в сироватці крові котів за гіпотиреозу у вихідному стані був на рівні 10,66 мкмоль/л, що у 1,4–4,7 раза вірогідно менше проти фізіологічних параметрів, що вказує на наявність патологічних процесів у щитоподібній залозі.

Після трансплантації алогенних мезенхімних стовбурових клітин безпосередньо у щитоподібну залозу цей показник поступово зростав і на 90 добу досліду був вірогідно вищим в 1,53 раза проти аналогічного показника у вихідному стані, що вказує на відновлення функціональної активності залози.

Отже, встановлено, що у котів із спонтанним гіпотиреозом трансплантація алогенних мезенхімних стовбурових клітин у щитоподібну залозу стимулює активність відновлення структури і функції щитоподібної залози.

## ВИСНОВКИ

Дисертацію присвячено розв'язанню важливого науково-практичного завдання – дослідження структурно-функціональних змін у щитоподібній залозі за гіпотиреозу та стимуляції процесів відновлення стану цього органу методами клітинної регенеративної терапії. Наведено наукове обґрунтування ефективності застосування алогенних мезенхімних стовбурових клітин для стимуляції регенеративних процесів у щитоподібній залозі та переваг цього методу перед традиційним способом лікування. Результати експериментальних досліджень підтверджено клінічними випробуваннями.

1. Вміст вільного тироксину у сироватці крові щурів за експериментального гіпотиреозу на 90 добу після застосування алогенних мезенхімних клітин у кількості  $2 \times 10^6$  достовірно зростає з 11,7 мкмоль/л у вихідному стані до 20,5–26,0 мкмоль/л залежно від способу їх введення, що достовірно вище порівняно з цим показником у тварин контрольної групи відповідно у 2,03–2,57 раза. За традиційного методу лікування рівень гормону достовірно перевищує цей показник на контролі лише в 1,63 раза.

2. Вміст вільного трийодтироніну в сироватці крові тварин на 90 добу після введення алогенних мезенхімних стовбурових клітин підвищується залежно від способу їх введення до 17,6–19,8 мкмоль/л, що достовірно на 31–66 % вище проти цього показника в крові тварин контрольної групи (14,0 мкмоль/л) та тварин за традиційного лікування – 17,0 мкмоль/л. Вміст трийодтироніну в сироватці крові тварин, яким вводили мезенхімні стовбурові клітини безпосередньо в щитоподібну залозу, найвищий (19,8 мкмоль/л).

3. Вміст тиреотропного гормону в сироватці крові щурів у вихідному стані є найвищим (31,8 мкмоль/л), що достовірно вище його рівня в крові інтактних тварин у 3 рази (10,5 мкмоль/л). На 90 добу після введення мезенхімних стовбурових клітин його рівень достовірно знижується залежно від способу введення до 20,5–28,9 мкмоль/л, що достовірно нижче на 7,9–37,5 % проти цього показника в крові тварин контрольної групи (32,8±0,7 мкмоль/л), але все ще залишається високим.

4. Вміст гормону щитоподібної залози кальцитоніну в сироватці крові щурів у вихідному стані (65 доба моделювання гіпотиреозу) знаходиться на рівні 12,0 мкмоль/л, що достовірно нижче його рівня в сироватці інтактних тварин в 1,6 рази. На 90 добу вміст кальцитоніну зростає до 15,5–14,1 мкмоль/л залежно від способу введення аlogenних мезенхімних стовбурових клітин, що достовірно вище на 11,3–24 % проти цього показника у тварин контрольної групи та тварин за традиційного лікування.

5. За експериментального гіпотиреозу встановлено достовірне підвищення вмісту паратгормону у вихідному стані до 38,7 мкмоль/л, що достовірно вище показника у інтактних тварин на 18 % (32,6 мкмоль/л); на 90 добу після введення аlogenних мезенхімних стовбурових клітин паратгормон знижується до 35,3–36,1 мкмоль/л, що достовірно нижче цього показника у тварин контрольної групи на 8,6–7,2 %; у тварин за традиційного лікування спостерігається тенденція до зниження, що свідчить про нормалізацію функції парашитоподібної залози. Динаміка вмісту цього гормону є, очевидно, захисною реакцією організму на зниження активності тиреоїдних гормонів.

6. У тварин за експериментального гіпотиреозу у вихідному стані розвивається виражена гіпоглікемія із достовірним зниженням вмісту глюкози в крові до 7,2 ммоль/л проти 12,4 ммоль/л в інтактних тварин, що достовірно нижче в 1,67 рази. За впливу аlogenних мезенхімних стовбурових клітин на 90 добу експерименту рівень глюкози у сироватці крові тварин залежно від способу введення клітин підвищується до 8,1–9,0 ммоль/л, що на 9,9–21,6 % вище цього показника у тварин контрольної групи.

7. За експериментального гіпотиреозу у тварин у вихідному стані розвивається гіперхолестеролемія, за якої рівень холестеролу зростає до 4,83 ммоль/л, що в 3,7 рази перевищує цей показник у інтактних тварин. Після застосування аlogenних мезенхімних стовбурових клітин вміст холестеролу в крові тварин знижується до 3,9–4,1 ммоль/л, що достовірно нижче на 17,2–15,65 % цього показника у тварин контрольної групи (4,82 ммоль/л).

8. Гістологічні зміни в щитоподібній залозі щурів за експериментального гіпотиреозу підтверджують виявлені зміни показників біохімічного і гормонального складу крові: у вихідному стані виявлено значні деструктивні процеси в залозі, які після трансплантації мезенхімних стовбурових клітин поступово зникають, і на 90 добу структура залози поступово відновлюється. Найвищий ефект спостерігається у тварин, яким мезенхімні стовбурові клітини вводиться безпосередньо в щитоподібну залозу.

9. Маса щитоподібної залози щурів за експериментального гіпотиреозу у вихідному стані в 3,27 раза перевищує цей показник у інтактних тварин. Після застосування алогенних мезенхімних стовбурових клітин маса щитоподібної залози тварин знижується до 0,04–0,05 г, що достовірно нижче цього показника в тварин контрольної групи на 43,9–25,5 %.

10. Маса тіла тварин за експериментального гіпотиреозу у вихідному стані зафіксована на рівні 134,3 г, що в 1,54 раза нижче проти цього показника в інтактних тварин. Після застосування алогенних мезенхімних стовбурових клітин маса тіла тварин підвищується до 163–164 г, що достовірно вище цього показника у тварин контрольної групи на 15,5–16 %.

11. У собак зі спонтанним гіпотиреозом вміст вільного тироксину у сироватці крові перед застосуванням мезенхімних стовбурових клітин знаходиться на рівні 5,8 мкмоль/л. На 90 добу після застосування алогенних мезенхімних стовбурових клітин безпосередньо у щитоподібну залозу в кількості  $6 \times 10^6$  цей показник зростає до 13,6 мкмоль/л, що достовірно вище у 2,34 раза, порівнюючи з цим показником у вихідному стані.

12. У котів за спонтанного гіпотиреозу вміст вільного тироксину у сироватці крові перед лікуванням знаходиться на рівні 10,66 мкмоль/л; на 90 добу досліду після введення алогенних мезенхімних стовбурових клітин в кількості  $4 \times 10^6$  безпосередньо у щитоподібну залозу показник зростає до 16,33 мкмоль/л, що достовірно вище, порівнюючи із цим показником у тварин у вихідному стані в 1,53 раза.

## ПРОПОЗИЦІЇ ВИРОБНИЦТВУ

Результати проведених досліджень можуть бути використані у науковій та навчальній роботі профільних установ ветеринарної медицини для подальшого вивчення молекулярних механізмів взаємодії алогенних та ксеногенних мезенхімних стовбурових клітин з організмом тварин-реципієнтів, а також у клінічній практиці як один із додаткових методів лікування тварин з гіпотиреοїдною недостатністю різного походження.

За результатами досліджень відпрацьовано нові способи моделювання гіпотиреοїдної недостатності у білих безпородних щурів і способи активізації відновлювальних процесів з відновленням структури ушкодженої щитоподібної залози у тварин алогенними мезенхімними стовбуровими клітинами, які підтверджено патентами на корисні моделі «Спосіб моделювання гіпотиреозу у щурів» та «Спосіб активізації відновлювальних процесів з відновленням структури ушкодженої щитоподібної залози за гіпотиреозу у тварин мезенхімними стовбуровими клітинами», а також методичними рекомендаціями «Методи видоспецифічної оцінки стовбурових клітин та їх застосування у ветеринарній клітинній регенеративній терапії» (розглянуто й затверджено Вченою радою Національного університету біоресурсів і природокористування України, протокол № 5 від 27 грудня 2017 р.).

Отримані результати пропонується використовувати у процесі написання відповідних розділів підручників і навчальних посібників за напрямом експериментальної регенеративної терапії у ветеринарній медицині.

## СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

### Статті у наукових фахових виданнях України:

1. Бокотько Р. Р. Морфологічні зміни щитоподібної залози щурів при експериментально змодельованому гіпотиреозі. Проблеми зооінженерії та ветеринарної медицини. Серія «Ветеринарні науки». 2016. № 33. Ч. 2. С. 239–243.

2. Бокотько Р. Р. Зміни біохімічних показників сироватки крові щурів при експериментальному гіпотиреозі. Науково-технічний бюлетень Державного науково-дослідного контрольного інституту ветеринарних препаратів та кормових добавок і Інституту біології тварин. 2017. Вип. 18. № 1. С. 19–23.

3. **Бокотько Р. Р.**, Мазуркевич А. Й., Сердюков Я. К., Данілов В. Б., Малюк М. О., Харкевич Ю. О., Ковпак В. В., Кладницька Л. В. Мікроскопічні зміни в щитоподібній залозі білих щурів за відновлення її структури шляхом введення мезенхімних стовбурових клітин при експериментальному гіпотиреозі. Науково-технічний бюлетень Державного науково-дослідного контрольного інституту ветеринарних препаратів та кормових добавок і Інституту біології тварин. 2017. Вип. 18. № 2. С. 377–382. *(Здобувачем проведено дослідження мікроскопічних змін щитоподібної залози, аналіз отриманих результатів та підготовлено статтю до друку).*

4. **Бокотько Р. Р.**, Мазуркевич А. Й., Харкевич Ю. О., Данілов В. Б. Рентгенденситометрія стегових кісток білих щурів після введення мезенхімних стовбурових клітин за експериментального гіпотиреозу. Проблеми зооінженерії та ветеринарної медицини. Серія «Ветеринарні науки». 2017. № 34. С. 24–27. *(Здобувачем взято участь у проведенні досліді щодо визначення щільності стегових кісток щурів за гіпотиреозу, аналізі отриманих результатів та написанні статті).*

### Статті у наукових фахових виданнях України,

#### включених до міжнародних наукометричних баз даних:

5. Бокотько Р. Р. Перспективи застосування стовбурових клітин за хвороб щитоподібної залози (стан питання). Науковий вісник Національного університету біоресурсів і природокористування України. Серія: Ветеринарна медицина, якість і безпека продукції тваринництва. 2015. № 227. С. 34–40.

6. Бокотько Р. Р. До патогенезу експериментального дифузного токсичного зоба в щурів. Наукові доповіді Національного університету біоресурсів і природокористування України. 2016. № 60. Режим доступу до статті: <http://journals.urau.ua/index.php/2223-1609/article/view/113247>.

7. **Бокотько Р. Р.**, Мазуркевич А. Й., Малюк М. О., Харкевич Ю. О., Данілов В. Б. Динаміка вмісту гормону вТ4 в крові та вага щитоподібної залози білих щурів із експериментальним гіпотиреозом після трансплантації мезенхімних стовбурових клітин. Науковий вісник Національного університету біоресурсів і природокористування України. Серія: Ветеринарна медицина, якість і безпека продукції тваринництва. 2017. № 265. С. 35–41. *(Здобувачем взято участь у проведенні досліді щодо визначення вмісту вТ4, аналізі отриманих результатів та написанні статті).*

### Стаття в іншому науковому виданні

8. **Бокотько Р. Р.**, Мазуркевич А. Й. Зміна живої маси білих щурів після введення стовбурових клітин за експериментального гіпотиреозу. Аграрний вісник Причорномор'я. Серія «Ветеринарні науки». 2016. № 81. С. 10–13. *(Здобувачем проведено дослідження живої маси білих щурів, аналізовано отримані результати та написано статтю).*

### Патенти України на корисну модель:

9. **Бокотько Р. Р.**, Мазуркевич А. Й., Малюк М. О., Ковпак В. В. Данілов В. Б., Харкевич Ю. О., Кладницька Л. В. Патент України на корисну модель № 06079 МПК G09B23/28 (2006.01). Спосіб моделювання гіпотиреозу у щурів; заявник і патентовласник Національний університет біоресурсів і природокористування України. № u 201706079; заявлено 16.06.2017; опубліковано 10.01.2018. Бюл. № 1. *(Здобувачем взято участь у розробленні принципу корисної моделі, проведено експериментальні дослідження, підготовлено матеріали до патентування).*

10. **Бокотько Р. Р.**, Мазуркевич А. Й., Малюк М. О., Ковпак В. В. Данілов В. Б., Харкевич Ю. О., Кладницька Л. В. Патент України на корисну модель № 06080 МПК G09B23/28 (2006.01). Спосіб активізації відновлювальних процесів з відновленням структури ушкодженої щитоподібної залози за гіпотиреозу у тварин мезенхімними стовбуровими клітинами; заявник і патентовласник Національний університет біоресурсів і природокористування України. № u 201706080; заявлено 16.06.2017; опубліковано 10.01.2018. Бюл. № 1. *(Здобувачем взято участь у розробленні принципу корисної моделі, проведено експериментальні дослідження, підготовлено матеріали до патентування).*

### Науково-методичні рекомендації

11. Мазуркевич А. Й., Малюк М. О., Харкевич Ю. О., Ковпак В. В., Данілов В. Б., **Бокотько Р. Р.** Методи видоспецифічної оцінки стовбурових клітин та їх застосування у ветеринарній клітинній регенеративній терапії: [науково-методичні рекомендації]. К., 2017. 34 с. *(Затверджено Вченою радою Національного університету біоресурсів і природокористування України, протокол № 5 від 27 грудня 2017 р. Здобувачем проведено дослідження впливу стовбурових клітин на регенерацію щитоподібної залози, здійснено аналіз результатів, підготовлено рекомендації до друку).*

### Тези наукових доповідей:

12. **Бокотько Р. Р.**, Мазуркевич А. Й., Данілов В. Б. Динаміка вмісту гормону вТ4 в крові та вага щитоподібної залози білих щурів із експериментальним гіпотиреозом після трансплантації мезенхімних стовбурових клітин. Досягнення та перспективи застосування гумінових речовин у сільському господарстві: Міжнародна науково-практична конференція, присвячена 95-річчю Дніпровського державного аграрно-економічного університету та 110-річчю від дня народження професора Л. А. Христевої, м. Дніпро, 19–20 жовтня 2017 року: тези доповіді. 2017.

С. 29–31. (Здобувачем проведено визначення вільного тироксину після введення мезенхімних стовбурових клітин, здійснено аналіз результатів, підготовлено тези до друку).

13. **Бокотько Р. Р.**, Мазуркевич А. Й., Данілов В. Б. Мікроскопічні зміни щитоподібної залози після введення мезенхімних стовбурових клітин за експериментального гіпотиреозу в щурів. Актуальні проблеми фізіології тварин: Міжнародна науково-практична конференція, присвячена 120-річчю Національного університету біоресурсів і природокористування України, м. Київ, 3–5 травня 2018 року: тези доповіді. 2018. С. 13. (Здобувачем проведено мікроскопічні дослідження, здійснено аналіз результатів, підготовлено тези до друку).

## АНОТАЦІЯ

**Бокотько Р. Р. Регенеративні процеси у щитоподібній залозі тварин за гіпотиреозу та їх стимуляція мезенхімними стовбуровими клітинами.** – На правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата ветеринарних наук зі спеціальності 16.00.02 «Патологія, онкологія і морфологія тварин». Національний університет біоресурсів і природокористування України. Київ, 2019.

Дисертацію присвячено вивченню характеру морфофункціональних змін у щитоподібній залозі та пов'язаних з ними змін в організмі тварин за експериментального та спонтанного гіпотиреозу, а також впливу на активність відновлювальних процесів залежно від способу введення мезенхімних стовбурових клітин.

Наведено результати досліджень макроскопічних, гістологічних і гормональних змін (вмісту вільного тироксину, вільного трийодтироніну, тиреотропного гормону, паратгормону, кальцитоніну), біохімічних (вміст в сироватці крові тварин глюкози та холестеролу), морфологічних і морфометричних змін у щитоподібній залозі тварин та динаміка маси тіла і щитоподібної залози за експериментального гіпотиреозу та впливу трансплантованих аlogenних мезенхімних стовбурових клітин внутрішньовенно, в порожнину серця та безпосередньо в саму тканину щитоподібної залози.

За введення аlogenних мезенхімних стовбурових клітин спостерігається активізація та прискорення репаративних процесів, починаючи вже з 20 доби експерименту після трансплантації аlogenних мезенхімних стовбурових клітин, які вводили безпосередньо в щитоподібну залозу, де за цих умов відбувається значне відновлення експериментально пошкодженої тканини щитоподібної залози і вже на 90 добу експерименту мікроструктура щитоподібної залози була досить наближеною до такої в нормі.

Порівняння ефективності трьох способів застосування аlogenних мезенхімних стовбурових клітин на репаративний процес тканин щитоподібної залози показало, що за введення аlogenних мезенхімних стовбурових клітин

безпосередньо у місце експериментального ушкодження щитоподібної залози процеси відновлення на всіх етапах репаративної регенерації більш інтенсивно виражені, ніж після введення в порожнину серця і внутрішньовенно.

**Ключові слова:** мезенхімні стовбурові клітини, гіпотиреоз, репаративний процес, сироватка, клітинний матеріал, тироксин, трийодтиронін, щитоподібна залоза, фолікули.

## АННОТАЦІЯ

**Бокотько Р. Р. Регенеративные процессы в щитовидной железе животных за гипотиреоза и их стимуляция мезенхимными стволовыми клетками.** – На правах рукописи.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата ветеринарных наук по специальности 16.00.02 «Патология, онкология и морфология животных». Национальный университет биоресурсов и природопользования Украины. Киев, 2019.

Диссертация посвящена изучению характера морфофункциональных изменений в щитовидной железе и связанных с ними изменений в организме животных во время экспериментального и спонтанного гипотиреоза, а также влияния на активность восстановительных процессов в зависимости от способа введения мезенхимных стволовых клеток.

Приведены результаты исследований макроскопических, гистологических и гормональных изменений (содержания свободного тироксина, свободного трийодтиронина, тиреотропного гормона, паратгормона, кальцитонина), биохимических (содержание в сыворотке крови животных глюкозы и холестерина), морфологических и морфометрических изменений в щитовидной железе животных и динамика массы тела и щитовидной железы с экспериментального гипотиреоза, влияния трансплантированных алогенных мезенхимных стволовых клеток внутривенно, в полость сердца и непосредственно в саму ткань щитовидной железы.

За введение алогенных мезенхимных стволовых клеток наблюдается активизация и ускорение репаративных процессов, начиная уже с 20 суток эксперимента после трансплантации алогенных мезенхимных стволовых клеток, которые вводили непосредственно в щитовидную железу, где в этих условиях происходит значительное восстановление экспериментально поврежденной ткани щитовидной железы и уже на 90 сутки эксперимента микроструктура щитовидной железы была достаточно приближенной к таковой в норме.

Сравнение эффективности трех способов применения алогенных мезенхимных стволовых клеток на репаративный процесс тканей щитовидной железы показало, что за введение алогенных мезенхимных стволовых клеток непосредственно в место экспериментального повреждения щитовидной железы процессы восстановления на всех этапах репаративной регенерации более интенсивно выражены, чем после введения в полость сердца и внутривенно.

**Ключевые слова:** мезенхимальные стволовые клетки, гипотиреоз, репаративный процесс, сыворотка, клеточный материал, тироксин, трийодтиронин, щитовидная железа, фолликулы.

## ANNOTATION

**Bokotko R. R. Regenerative Processes in the Thyroid Gland of Animals for Hypothyroidism and Their Stimulation by Mesenchymal Stem Cells. – The Manuscript.**

Dissertation for the degree of candidate of veterinary sciences on specialty 16.00.02 «Pathology, Oncology and Morphology of Animals». National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine. Kyiv, 2019.

The dissertation is devoted to the study of the mechanism of influence of mesenchymal stem cells on the course of reparative processes in the thyroid gland of white rats, cats and dogs.

Used techniques of correction of reparative processes in the thyroid gland in rats.

The influence of mesenchymal stem cells on restoration processes in the parenchyma of the thyroid gland of animals has been proved.

The effect of allogeneic mesenchymal stem cells on reparative processes in rats with their therapeutic purpose after experimental hypothyroidism, as well as the effect of allogeneic mesenchymal stem cells on the course of reparative processes in cats and dogs has been studied.

The morphological composition of blood, hormonal state after application of cellular material for correction of reparative processes in the thyroid gland has been studied.

For the first time in the comparative aspect between different groups of experimental animals and different methods of administration of allogenic mesenchymal stem cells, the nature of the manifestation of microstructural changes in the thyroid gland of animals for experimental hypothyroidism is presented.

After administration of allogenic mesenchymal stem cells, the cholesterol content in animal blood in all experimental groups decreased and for 90 days it was believed to be lower in all groups, compared to this in animals in the control group. Moreover, in the group of animals that were administered mesenchymal stem cells directly to the thyroid gland, this decrease was the largest – by 24 %.

It was established that the content of free thyroxine in blood of rats for experimental hypothyroidism increased from 11.7 in the initial state to 20.5–26.0  $\mu\text{Ml}$  for 90 days after application of allogenic mesenchymal stem cells in the amount of  $2 \times 10^6$ .

It was found that in dogs with spontaneous hypothyroidism, the content of free thyroxin in serum before application of mesenchymal stem cells was 5.8 mmol/l. At 90 days after application of allogenic mesenchymal stem cells directly into the thyroid gland in the amount of  $6 \times 10^6$  this figure increased to 13.6 mmol/l.

After the introduction of allogeneic mesenchymal stem cells, the level of the hormone was gradually increased and by 90 days it was probably higher than this

baseline and control, indicating a gradual restoration of the thyroid gland's functional capacity.

For the first time in cats it was found that for spontaneous hypothyroidism, the content of free thyroxine in serum before treatment was at 10.66 nmol/l; At 90 days of the experiment, after the introduction of allogenic mesenchymal stem cells in the number of  $4 \times 10^6$  directly into the thyroid gland, this figure increased to 16.33 nmol. The scientific novelty of the dissertation is confirmed by two patents for the utility model.

Biochemical changes in blood of rats under experimental hypothyroidism are confirmed by the histological picture of the thyroid gland: in the initial state, significant destructive processes in the gland have been detected, which gradually disappear after transplantation of mesenchymal stem cells, and on the 90 day the structure of the gland is gradually restored. The weight of the body of animals for experimental hypothyroidism in the initial state is fixed at 134.3 g, which is 1.54 times lower, against this indicator in intact animals. After application of allogenic mesenchymal stem cells, the body weight of animals increases to 163–164 g, which is significantly higher against this indicator in animals of the control group by 15.5–16 %.

The results of the study of the content of free triiodothyronine in blood of rats in their dynamics are similar to the results of study of thyroxine content: in the initial state, the level of the hormone was 14.0  $\mu\text{M/l}$ , which is 1.5 times less than that in intact animals.

From the 20 to the 90 days, the regenerative processes gradually increased, and on the 90 day of observation, the microscopic structure of the thyroid gland was almost no different from the normal, although it had some peculiarities.

After the introduction of mesenchymal stem cells, its level gradually increased and for 90 days of observation was in different experimental groups from 17.0 to 19.8  $\mu\text{M/l}$ , which is believed to exceed this figure in the blood of animals in the control group. Moreover, the highest result is recorded in the group of animals, which mesenchymal stem cells were injected directly into the thyroid gland.

At the 90 day, after conducting mesenchymal stem cells directly into the thyroid gland, its microscopic structure was almost unchanged from that in intact animals, with the exception of relatively small cell proliferation. Thus, the results of our histological studies show that, in experimental hypothyroidism, the use of mesenchymal stem cells in any way significantly accelerates the restoration of the structure of the thyroid gland as compared with the traditional method of treatment.

In cats for spontaneous hypothyroidism, the content of free thyroxine in serum before treatment was at 10.66 nmol/l. At 90 days of the experiment, after the introduction of allogenic mesenchymal stem cells in the number of  $4 \times 10^6$  directly into the thyroid gland, this figure increased to 16.33 nmol/L, which is significantly higher in comparison with this indicator in the initial state of 1.53 times.

**Key words:** mesenchymal stem cells, hypothyroidism, reparative process, serum, cellular material, thyroxine, triiodothyronine, thyroid gland, follicles.

Підписано до друку 09.04.19  
Ум. друк. арк. 0,9  
Наклад 100 прим.

Формат 60x84\16  
Обл.-вид.арк. 0,9  
Зам. № 190279

Віддруковано у редакційно-видавничому відділі НУБіП України  
вул. Героїв Оборони, 15, Київ, 03041  
тел.: 527-81-55

