

УДК 616-092.4+616.441:615.361.013+574.52/68:574.7/8

Н.Г. МАЛОВА^{1*}, Т.М. ЮРЧЕНКО^{2*}, Т.С. БОЖКО¹, І.В. КОМАРОВА¹,
Д.В. СТРОНА³, Ю.М. СОЛОНЕЦЬ¹, В.І. ЧУЙКОВА²

Експериментальне обґрунтування застосування кріоконсервованих препаратів ембріофетоплацентарного комплексу для корекції патологій щитовидної залози. Повідомлення I. Вплив біопрепарату фетального тимуса на функціональну активність щитовидної залози кролів

UDC 616-092.4+616.441:615.361.013+574.52/68:574.7/8

N.G. MALOVA^{1*}, T.M. YURCHENKO^{2*}, T.S. BOZHKO¹, I.V. KOMAROVA¹,
D.V. STRONA³, YU.M. SOLONETS¹, V.I. CHUJKOVA²

Experimental Substantiation for Applying Cryopreserved Preparations of Embryofetoplacental Complex in Thyroid Gland Pathology Correction.

Report I. Effect of fetal thymus preparations on rabbit thyroid gland functional activity

Вивчено вплив ксенотрансплантації кріоконсервованого біопрепарату фетального тимуса людини на функціональну активність щитовидної залози кролів із пригніченою тиреоїдною функцією (експериментальний мерказоліловий гіпотиреоз). Відмічено нормалізуючий вплив проведеної терапії на тиреоїдну систему експериментальних тварин. Доведено, що стимулюючий ефект трансплантації має двофазний характер: досягає максимуму до другого місяця після підсадки і поступово нівелюється до четвертого місяця досліджень. Повторна підсадка тканини тимуса стимулює тиреоїдну функцію тварин, що вказує на здатність щитовидної залози, яка знаходиться у пригніченому стані, до неодноразового відновлення своєї активності після трансплантації тканини фетального тимуса.

Ключові слова: фетальний тимус, щитовидна залоза, мерказоліловий гіпотиреоз.

Исучено влияние ксенотрансплантации криоконсервированного биопрепарата фетального тимуса человека на функциональную активность щитовидной железы кролей с угнетенной тиреоидной функцией (экспериментальный мерказолилловый гипотиреоз). Отмечено нормализующее влияние проведенной терапии на тиреоидную систему экспериментальных животных. Показано, что стимулирующий эффект препарата имеет двухфазный характер: достигает максимума ко второму месяцу после подсадки и постепенно нивелируется к четвертому месяцу исследований. Повторная подсадка ткани тимуса стимулирует тиреоидную функцию животных, что указывает на способность щитовидной железы, находящейся в угнетенном состоянии, к неоднократному восстановлению активности после трансплантации ткани фетального тимуса.

Ключевые слова: фетальный тимус, щитовидная железа, мерказолилловый гипотиреоз.

The xenotransplantation effect of human fetal thymus cryopreserved biopreparation on rabbit's thyroid gland functional activity with a suppressed thyroid function (experimental mercazolil hypothyrosis) has been studied. A normalizing effect of the performed therapy on experimental animals' thyroid system has been noted. Stimulating effect of the preparation was proved to be a two-phase: approaching to the maximum by the 2nd month after engraftment and a gradual leveling by the 4th one. A repeated engraftment of thymus tissue stimulates a thyroid function in animals, that indicates to the capability of suppressed thyroid gland for a multiple recovery of activity after fetal thymus tissue transplantation.

Key-words: fetal thymus, thyroid gland, mercazolil hypothyrosis.

¹Інститут проблем ендокринної патології ім. В.Я.Данилевського АМН України, м. Харків

²Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України, м. Харків

³ДП "Міжвідомчий науковий центр кріобіології і кріомедицини НАН, АМН і МОЗ України", м. Харків

* Автор, якому необхідно надсилати кореспонденцію: вул. Переяславська, 23, м. Харків, Україна 61015; тел.:+38 (057) 373-34-85, факс: +38 (057) 373-30-84, електронна пошта: cryo@online.kharkov.ua

¹V.Ya. Danilevsky Institute for Problems of Endocrine Pathology of Academy of Medical Sciences of Ukraine, Kharkov, Ukraine

²Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkov, Ukraine

³State Enterprise "Interdepartmental Scientific Center of Cryobiology and Cryomedicine of National Academy of Sciences, Academy of Medical Sciences and Ministry of Health Care of Ukraine", Kharkov, Ukraine

* To whom correspondence should be addressed: 23, Pereyaslavskaya str., Kharkov, Ukraine 61015; tel.:+380 57 373 3485, fax: +380 57 373 3084, e-mail:cryo@online.kharkov.ua

Для України вивчення питань патології та лікування щитовидної залози особливо актуальне у зв'язку з наслідками Чорнобильської аварії та негативними чинниками екологічного фону, зокрема хімічним забрудненням навколишнього середовища [2, 5, 12].

Несприятлива епідеміологічна ситуація призводить до багатьох соціально-економічних проблем, пов'язаних із втратою працездатності населення. Тому актуальність пошуку ефективних засобів для терапевтичної корекції тиреопатій не підлягає сумніву.

На даний час не існує ефективної патогенетичної терапії гіпотиреозу, і лікування патології полягає в замісній терапії, засобами якої є різні форми тиреоїдних гормонів [1, 13, 17]. Незважаючи на широкий спектр гормональних препаратів на фармацевтичному ринку, замісна терапія не може вирішити основних задач лікування ендокринопатій – відновлення та підтримка гормонального гомеостазу організму. Крім того, тривале застосування гормональних препаратів може призвести до важких ускладнень.

Привертає увагу новий напрямок лікування патологічних станів людини – клітинна, тканинна та регенераційна терапія, які базуються на використанні біопрепаратів з ало- і ксеногенних тканин та клітин ембріофетоплацентарного комплексу (ЕФПК). Перевагою використання цих біопрепаратів є заміщення або, навіть, відновлення функції ураженого органа. Біологічно активні збалансовані сполуки природного походження, які входять до їх складу, здатні впливати на різні складові метаболізму як на клітинному рівні, так і на організм в цілому.

При патології щитовидної залози (ЩЗ) обґрунтованим і клінічно апробованим, зокрема в Інституті проблем ендокринної патології АМН України, методом лікування гіпотиреозу є замісна терапія з використанням тканини ЩЗ (ало- і ксенотрансплантація), яка дозволяє отримати достатньо тривалий позитивний вплив на перебіг захворювання та виключити традиційне медикаментозне лікування [7-9]. Однак через дефіцит алотрансплантаційного матеріалу цей метод малодоступний для більшості хворих. Альтернативою може бути ксенотрансплантація культур тканин та клітин ЩЗ новонароджених поросят, хоча на теперішній час механізми дії ксенотрансплантатів вивчені недостатньо [16, 23].

Дослідження останніх років, головним чином вітчизняних вчених, свідчать про те, що фетальна клітинна та тканинна терапія більш ефективна у порівнянні з ало- та ксенобіопрепаратами, отриманими зі зрілого організму. Препарати із кріоконсервованих фетальних клітин та тканин

Studying the problems of thyroid gland pathology and treatment is of special actuality for Ukraine due to Chernobyl accident consequences and negative ecological factors, in particular chemical pollution of environment [2, 5, 12].

Unfavorable epidemiological situation results in many social and economic problems, associated to the population disabling. Therefore the actuality of searching the efficient ways for therapeutic correction of thyropathies is beyond doubt.

Nowadays there is no efficient pathogenetic hypothyrosis therapy and the pathology treatment consists in a substitutive therapy with different forms of thyroid hormones [1, 13, 17]. In spite of a wide range of hormone preparations in pharmaceutical market, a substitutive therapy is inefficient in solving the main tasks of endocrinopathy treatment: recovery and maintaining of organism hormonal homeostasis. In addition, a long-term application of hormone preparations may result in hard complications.

A new direction in human pathological state treatment: cell, tissue and regenerative therapy, based on applying biopreparations from allo- and xenogenic tissues and cells of embryofetoplacental complex (EFPC) attracts our attention. The advantage in their application is either substitution or even recovery of damaged organ function. Biologically active balanced compounds of natural origin being their part, are capable to affect various metabolic components both at cellular level and the whole organism.

Under thyroid gland (TG) pathology a substantiated method for hypothyrosis treatment, being clinically approved, especially at the Institute for Problems of Endocrine Pathology of Academy of Medical Sciences of Ukraine, is a substitutive therapy with applying TG tissue (allo- and xenotransplantation), enabling to obtain quite a long-term positive effect on the diseases proceeding and to exclude the traditional medicamentous treatment [7-9]. However, due to the allotransplantation material deficiency, this method is slightly available for majority of patients. Xenotransplantation of TG tissue and cell cultures of newborn piglets may serve as the alternative, although the action mechanisms of xenotransplantation have still remained poorly studied [16, 23].

Recent researches, mostly of national scientists, testify to the fact that the fetal, cell and tissue therapy is more efficient if compared to the allo- and xenobiopreparations, derived from a mature organism. Preparations from cryopreserved fetal cells and tissues contribute to an integral recovery of hormonal homeostasis and adequate neuroendocrine and immune regulation of organism functions [14, 15], that is testified by the results of experimental and clinical researches [3, 18, 19]. Thus, to a certain extent the application of fetal biopreparations is a perspective

сприяють повноцінному відновленню гормонального гомеостазу і адекватній нейроендокринній та імунній регуляції функцій організму [14, 15], що підтверджується результатами експериментальних та клінічних досліджень [3, 18, 19]. Таким чином, застосування фетальних біопрепаратів у певній мірі є перспективною альтернативою замісної терапії ендокринних захворювань, а їх використання в останнє десятиріччя інтенсивно поширюється [20, 21].

Мета дослідження – вивчення впливу біопрепарату фетального тимуса людини на тиреоїдний статус кролів із змодельованим гіпотиреозом.

Матеріали і методи

В досліджах використовували фетальну заградину залозу людини. Донорами фетальної заградинної залози були абортівні плоди людини зі строком гестації 20–24 тижня лише у тому випадку, коли вагітність переривалася у зв'язку з соціальними показниками при відсутності патології розвитку та інфікованості плоду.

Фрагменти тканин ФТ масою від 700 мг поміщали з дотриманням правил асептики та антисептики у стерильні пластикові контейнери (Nunc, США) для низькотемпературного консервування. Кріоконсервування і зберігання при температурі -196°C контейнерів з тимусом здійснювали за методикою [4].

Дію кріоконсервованого фетального тимуса (ФТ) вивчали на кролях породи Шиншила ($n=21$). Тварин розподілили на три групи.

1. Еутиреоїдний контроль – інтактні тварини.

2. Мерказоліловий контроль (МК) – модельний гіпотиреоз, який викликали згідно з методичними рекомендаціями [6]. Тварини отримували 10 мкг/кг мерказолілу протягом двох місяців.

3. Дослідження дії ФТ – на фоні змодельованого гіпотиреозу (МК+ФТ) здійснювали двократну підсадку фрагментів ФТ з інтервалом 4 місяці. Імплантацію препарату проводили хірургічним шляхом. Для цього кролям на спині, в області лопатки, під місцевим новокаїновим наркозом робили підшкірний карман, в який вносили стерильний фрагмент людського ФТ масою 700-800 мг на одну тварину. Розріз зашивали та обробляли антисептиками. Через 2 тижні після операції у кролів з вушної вени брали зразки крові для гормональних досліджень тиреоїдного статусу. У подальшому забори крові проводили щомісяця до наступного введення. Тварин через місяць після останньої підсадки виводили з експерименту. Вплив досліджуваних тканин вивчали на фоні відміни мерказолілу. Масу кролів контролювали щотижня, дози коректували відповідно до зміни цього показника.

alternative for endocrine disease substitutive therapy and their application has been intensively extended in a recent decade [20, 21].

Research was aimed to study the effect of fetal thymus biopreparation on thyroid status in rabbits with a modelled hypothyrosis.

Materials and methods

Human fetal thyroid gland was used in the experiments. Thyroid gland donors were aborted human fetuses of 20-24 gestation weeks only in case when pregnancy was terminated due to social indications with no pathology in development and fetus infections.

FT tissue fragments of more than 700 mg weight were placed according to the aseptic and antiseptic regulations into the "Nunc" sterile disposable containers for low temperature preservation.

Containers with thymus were preserved and stored at -196°C according to the method [4].

Cryopreserved fetal thymus (FT) effect was studied in Chinchilla rabbits ($n=21$). Animals was divided into 3 groups.

1. Euthyroid control comprised the intact animals.

2. Mercazolilum control (MC) was a model hypothyrosis, induced according to the methodical recommendations [6]. Animals were administered with 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ mercazolilum within 2 months.

3. FT effect study: at the background of modelled hypothyrosis (MC+FT) the FT fragments were twice engrafted with 4 month interval. Preparation was surgically implanted. For this purpose in rabbit's back and shoulder-blade area a subcutaneous pocket was done under local novocaine narcosis, where a sterile fragment of human FT with 700-800 mg per animal, was placed. Incision was stitched and treated with antiseptics. Two weeks after operation the blood samples were procured from auricular vein for hormonal studies of thyroid status. Blood was procured then every month until following introduction. After last engraftment the animals were removed from the experiment.

The effect of studied compounds was investigated at the background of mercazolil cancel. Rabbit weight was controlled every week with dose correction according to this index change.

The animals of all groups were placed under similar conditions and received the same food ration. The blood procurement was procured within the same terms and under same algorithm in all animal groups. The realisation of the mentioned above manipulations was simultaneous.

After removing rabbits out of experiment the blood was procured for hormonal studies.

Thyroid hormone content was determined in the experiments using test-kits for immune-enzyme

Тварини усіх груп знаходились в однакових умовах та отримували аналогічний харчовий раціон. Маніпуляції по забору крові проводились у однакові строки паралельно у тварин всіх груп за однаковим алгоритмом.

Після виведення кролів з експерименту проводився забір крові для гормональних досліджень.

В експериментах вміст тиреоїдних гормонів визначали за допомогою тест-наборів для імуноферментного аналізу виробництва "Алкор-Біо" (Росія) та імуноферментного аналізатора АІФ-М/340 "Витязь" (Білорусь).

Отриманий у ході дослідження цифровий матеріал обробляли методами варіаційної статистики з використанням критерію Стьюдента-Фішера [10].

Результати та обговорення

Проведено дослідження впливу препарату ФТ людини на тиреоїдну систему кролів із змодельованим гіпотиреозом. Показано, що після двомісячного введення мерказолілу та відміни препарату протягом 1 місяця спостерігається вірогідний, у порівнянні з контролем, приріст відносної маси ЩЗ (відповідно $6,53 \pm 0,58$ та $4,12 \pm 0,22$, $P \leq 0,02$). Подальша чотирьохмісячна експозиція тварин у режимі відміни мерказолілу призводила до зниження відносної маси органа до контрольних значень (відповідно $4,94 \pm 0,32$ та $5,33 \pm 0,45$). Виявлена динаміка свідчить про нівелювання зобогенної дії мерказолілу на вказаному часовому відрізку.

Через місяць після підсадки тимуса відносна маса ЩЗ не відрізнялась від значень еутиреоїдного контролю (ЕК). Такі ж показники зберігались у цій групі протягом усього дослідження. Отримані факти свідчать про відсутність зобогенного ефекту і нормалізуючий вплив ксенотрансплантата на абсолютну та відносну масу ЩЗ.

Показники вмісту тиреоїдних гормонів у сироватці крові кролів усіх експериментальних груп наведені у таблиці.

При оцінці динаміки співвідношення обох форм тиреоїдних гормонів (T_3 , T_4) у сироватці крові еутиреоїдних кролів протягом тривалого експерименту (5 місяців – з травня по жовтень) встановлено поступове падіння вмісту T_3 та підйом вмісту T_4 у сироватці крові ($P < 0,002$ та $P < 0,02$ відповідно). Втричі знижувалося також співвідношення T_3/T_4 у циркулюючій крові ($0,067 \pm 0,004$ – у травні та $0,020 \pm 0,005$ – у жовтні).

Отримані результати підтверджує дослідження [22], згідно з яким виразні сезонні коливання вмісту тироксину в крові з максимумом спостерігаються наприкінці літа – початку осені, та [24], де показано суттєве коливання концентрації ТТГ у плазмі крові щурів протягом року (максимум – зимою, мінімум –

analysis of "Alkor-Bio" Company (Russia) and AIF-M/34- "Vityaz" immune enzyme analyser (Belarus).

Digital research material was processed using the methods of variance analysis with the Student-Fisher's criterion [10].

Results and discussion

Human FT preparation effect on thyroid system in rabbits with the modelled hypothyrosis has been investigated. Two months after mercazolil administration and its cancel, a statistically significant increase in TG relative weight compared to the control (6.53 ± 0.58 and 4.12 ± 0.22 , $P \leq 0.02$, correspondingly) was observed within 1 month. Further 4 months' animal exposure under regimen of mercazolil cancel resulted in a decrease in organ relative weight down to the control values (4.943 ± 0.32 and 6.33 ± 0.45 , correspondingly). The revealed dynamics testifies to the levelling of goitrogenic mercazolil effect during the mentioned time period.

A month after thymus engraftment the TG relative weight did not differ from the euthyroid control values. The obtained facts testify to the absence of goitrogenic effect and a normalising effect of xenotransplant on the TG absolute and relative weight.

Indices of thyroid hormone composition in blood serum of all experimental groups of rabbits are shown in the Table.

When estimating the ratio dynamics of both thyroid hormone forms (T_3 , T_4) in blood serum of euthyroid rabbits within a long-term experiment (5 months: from May to October) a gradual decrease in T_3 content and increase in T_4 one in blood serum ($P < 0.002$ and $P < 0.02$, correspondingly) was established. T_3/T_4 ratio index in circulating blood (0.067 ± 0.004 in May and 0.020 ± 0.005 in October) was thrice reduced as well.

The results obtained confirm the research [22], according to which the maximum season changes in thyroxin content in blood were observed in late summer – early autumn and those [24] where there was established a significant change in TTH concentration in rat blood plasm within the year (maximum in winter, minimum in summer). The found regularity may testify to a physiologically stipulated season decrease in thyroid function activity, that should be taken into account for long-term experiment performance.

The estimation of mercazolil and FT effects on thyroid function has shown that at the background of mercazolil administration and further cancelling, there was observed the certain reduction of manifested season changes in studied indices, especially T_3 , which average content in blood did not practically vary. Thyroxin level increase in this group of animals was statistically and significantly lower in late summer, than in the control.

Вплив ФТ на тиреоїдну функцію кролів з гіпотиреозом ($\bar{x} \pm Sx$, $n=7$)
 FT effect on thyroid function of rabbits with hypothyrosis ($\bar{x} \pm Sx$, $N=7$)

Групи Groups	Гормон Hormone	Строки дослідження після підсадки ФТ, міс Observation terms after FT engraftment, months							
		0,5	1	1,5	2	2,5	3	4	5 (1 після повторної підсадки) (1 after repeated engraftment)
		Вміст гормону у сироватці крові, нмоль/л Hormone content in blood serum, nmol/l							
ЕК EC	T ₃	3,93±0,41	3,80±0,29	4,01±0,51	3,02±0,27	2,70±0,21	1,75±0,21	2,15±0,16	1,80±0,16
	T ₄	58,76±4,22	66,17±5,38	67,73±5,38	76,70±7,18	87,00±6,33	111,56±8,94	70,85±5,35	88,50±67,54
МК (гіпотиреоз) МС (hypothyrosis)	T ₃	2,75±0,18 ¹	2,45±0,20 ¹	2,88±0,18 ³	2,34±0,21	3,10±0,45	2,05±0,18	2,87±0,22 ¹	2,93±0,18 ¹
	T ₄	39,69±4,70 ¹	40,82±3,37 ¹	41,09±5,72 ¹	38,74±4,04 ¹	62,87±5,80 ¹	71,10±8,09 ¹	40,10±3,50 ¹	57,30±5,05 ¹
МК+ФТ (гіпотиреоз + підсадка ФТ) МС+ФТ (hypothyrosis + FT engraftment)	T ₃	1,66±0,18 ²	3,31±0,27 ²	2,70±0,22	2,54±0,14	3,03±0,26	2,15±0,16	3,28±0,29	3,01±0,23
	T ₄	54,73±4,26 ²	39,65±4,20	50,70±4,28	54,08±3,66 ²	82,60±6,17 ²	82,40±9,20	46,10±3,73	82,50±6,19 ²

Примітки: ¹ – вірогідність змін показників відносно до ЕК ($P \leq 0,05$); ² – вірогідність змін показників відносно до МК ($P \leq 0,05$).

Notes: ¹ – statistical significance of changes in the indices in respect of EC ($P \leq 0.05$); ² – statistical significance of changes in indices in respect of MC ($P \leq 0.05$).

влітку). Виявлена закономірність може свідчити про фізіологічно обумовлене сезонне зниження активності тиреоїдної функції, яке необхідно враховувати при проведенні довготривалих експериментів.

Оцінка впливу мерказолілу та ФТ на тиреоїдну функцію показала, що на тлі введення та подальшої відміни мерказолілу простежується певне зменшення виразних сезонних змін досліджуваних показників, особливо T₃, середній вміст якого в крові практично не коливався. Рівень тироксину у цій групі тварин зростає наприкінці літа вірогідно менше, ніж в контролі.

Порівняння вмісту T₃ у сироватці крові еутиреоїдних кролів та тварин з експериментальним гіпотиреозом виявило закономірність їх змін в обох групах. На початку експерименту, на ранніх строках після відміни мерказолілу (від 2 тижнів до 1 місяця), спостерігається вірогідне зниження цього показника, яке у подальшому (1,5-2 місяці) зберігається лише як тенденція.

На 3-місячному етапі дослідження простежується деяке зростання рівня T₃ відносно контролю, яке досягає ймовірних значень через 4-5 місяців. Така інверсія співвідношення T₃ в групах 1 та 2 може бути, у першу чергу, пов'язана із зникненням безпосередньої дії мерказолілу на тиреоїдну систему, а також з тим, що на фоні відміни препарату у кролів до кінця експерименту спостерігається тиреоїдна недостатність (вірогідне

Comparing the T₃ content in blood serum of euthyroid rabbits and animals with experimental hypothyrosis have revealed the regularity of their changes in both groups. At the experiment beginning, at early terms after mercazolil cancelling (from 2 weeks to 1 month) there is observed a statistically significant decrease in this index with its further (1.5-2 months) keeping only as a tendency.

To the 3rd month research stage there is observed a certain increase in T₃ level in respect to the control, approaching to the statistically significant values in 4-5 months. This inversion of T₃ ratio in the "control"/"mercazolil" groups may be primarily associated to the disappearance of mercazolil direct effect on thyroid system, as well as to the fact that at the background of preparation cancelling a thyroid insufficiency (statistically significant decrease in T₄ level compared to the control) is observed in rabbits to the experiment end. This may result in a compensatory activation of periphery conversion processes of T₄ into T₃.

FT application in rabbits with hypothyrosis at early research terms (2 weeks) causes a peak increase of thyroxin content in animal blood and the T₃ concentration fall (Figure). A month later the T₄ level reduces down to the indices, obtained in MC group, herewith the T₃ concentration increases twice. The cause of significant varying in these indices within the first month needs further investigations. This mostly concerns the sharp differentials in T₃ content, since in distant terms under FT effect the T₃ level was the same

падіння рівня T_4 у порівнянні з контролем), це може призводити до компенсаторної активації процесів периферійної конверсії T_4 у T_3 .

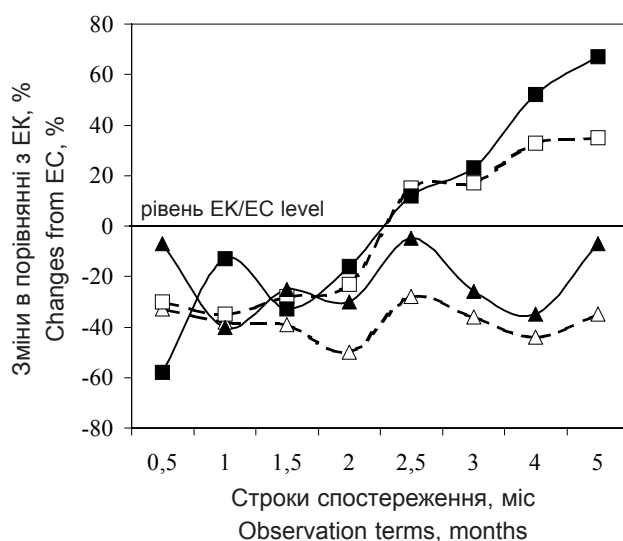
Використання ФТ кролям з гіпотиреозом на ранніх строках дослідження (2 тижні) викликає пікове підвищення вмісту тироксину в крові тварин та падіння концентрації T_3 (рисунок). Через місяць рівень T_4 знижується до показників, отриманих в групі МК, при цьому концентрація T_3 підвищується вдвічі. Причина значних коливань цих показників протягом першого місяця потребує додаткового вивчення. Особливо це стосується різких перепадів вмісту T_3 , оскільки у віддалені строки під впливом дії ФТ рівень T_3 достовірно не відрізнявся від групи МК. Можливо, що подібні флуктуації гормонального фону тісно пов'язані з дією саме ксеноматеріалу та процесами його приживлення та адаптації в організмі кролів. Можна припустити, що у подальшому нормалізуються та відновлюються функції ЩЗ, оскільки на відміну від рівня T_3 спостерігається тривалий приріст рівня T_4 , що набуває максимального значення через 2-2,5 місяця після підсадки тимуса. Рівень тироксину починає поступово знижуватись до 3-го місяця експерименту і досягає контрольних значень на четвертому місяці експерименту.

Після 4-го місяця спостережень за динамікою тиреоїдного статусу була проведена друга підсадка тканини ФТ для контрольної оцінки здатності пригніченої функції ЩЗ до подальшого відновлення. Як видно з наведених даних, повторна маніпуляція сприяє значному підвищенню тиреоїдної функції. В цій групі тварин вміст тироксину був вірогідно вищим, ніж у групі з мерказоліловим гіпотиреозом та наближався до значень еутиреоїдного контролю. Концентрація T_3 , навіть, вірогідно перевищувала цей показник у кролів еутиреоїдної групи. Отримані дані свідчать про те, що ЩЗ, функція якої знижена під впливом довготривалого введення мерказолілу, здатна відновлюватися після проведення трансплантації тканини ФТ.

Висновки

Таким чином, ксенотрансплантація тканини ФТ свідчить про вірогідний стимулюючий вплив на тиреоїдну паренхіму кролів з пригніченою функцією ЩЗ. Максимальний ефект дії біопрепарату в організмі реципієнта спостерігається на 2-й місяць і практично зникає до 4-го місяця. На фоні поступового згасання біологічного ефекту тканини ФТ повторна його підсадка призводить до нової потужної стимуляції тиреоїдної функції.

Отримані результати вказують на перспективність та доцільність подальшої розробки цього напрямку роботи з метою створення безпечних патогномічних схем корекції захворювань щитовидної залози. Поряд з цим розробка алгоритму



Зміни рівня тиреоїдних гормонів у сироватці крові кролів з експериментальним гіпотиреозом відносно еутиреоїдного контролю: Δ – T_4 ; \square – T_3 в групі МК; \blacktriangle – T_4 ; \blacksquare – T_3 після підсадки фетального тимуса (група МК+ФТ).

Changes in thyroid hormone level in blood serum of rabbits with experimental hypothyrosis in respect of euthyroid control: Δ – T_4 ; \square – T_3 in MC group; \blacktriangle – T_4 ; \blacksquare – T_3 after fetal thymus engrafting (MC+FT group).

as for MC group. These fluctuations of hormonal background are probably in a tight connection with the xenomaterial action itself and the processes of its engraftment and adaptation in rabbit organism. TG functions may be assumed as normalising and recovering in future, because in contrast to T_3 a long-term T_4 increase, approaching to the maximum value in 2-2.5 months after thymus engraftment, is noted. Decrease in thyroxin level begins gradually until the 3rd month of experiment and reaches the control values to the 4th one.

The second engraftment of FT tissue was carried-out after the 4th month of observation of thyroid status dynamics for the control evaluation of the suppressed TG function capability for further recovery. The data presented show that a repeated manipulation contributes to a considerable augmentation of thyroid function. In this group of animals the thyroxin content was statistically and significantly higher than in the group with mercazolil hypothyrosis and approached to the euthyroid control values. T_3 concentration was even statistically and significantly exceeded this index in rabbits of euthyroid group. The data obtained testify to the fact, that the TG with a reduced function under long-term mercazolil effect, is capable to recover after FT tissue transplantation.

Conclusions

Thus, the FT tissue xenotransplantation testifies to a statistically significant stimulating effect on the rabbit thyroid parenchyma with TG suppressed function. The maximum effect of biopreparation in a

оптимальних строків повторних підсадок тканини ФТ потребує додаткових досліджень.

Література

1. *Болезни щитовидной железы* / Под ред. Л.И. Бравермана. – М.: Медицина, 2000. – 418 с.
2. *Гридько О.М.* Структурно-функціональний стан щитовидної залози хворих на вузловий зоб, евакуйованих із 30-кілометрової зони ЧАЕС // *Врачебное дело.* – 1998. – № 2. – С. 29-33.
3. *Грищенко В.І.* Фундаментальні дослідження і нові біотехнології одержання клітинних і тканинних алотрансплантатів // *Трансплантологія.* – 2003. – Т. 4, № 1. – С. 16–20.
4. *Грищенко В.И., Юрченко Т.Н., Прокопюк О.С.* Новые криобиологические технологии получения клеточных и тканевых фетоплацентарных трансплантатов и их использование в медицине // *Трансплантология.* – 2004, №3. – С. 123–129.
5. *Гульчий Н.В., Аветисьян М.Л., Степаненко А.П. и др.* Общие тенденции патоморфоза хирургических заболеваний щитовидной железы после Чернобыльской катастрофы // *Врачебное дело.* – 1998. – № 1. – С. 27-32.
6. *Деряпа Н.Р., Мoshkin М.П., Посный В.С.* Проблемы медицинской биоритмологии. – М.: Медицина, 1985. – 206 с.
7. *Долот В.Д.* Вивчення ефективності клінічного використання трансплантації культури тканин щитоподібної залози новонароджених поросят як методу лікування гіпотиреозу // *Трансплантологія.* – 2003. – Т.4, №1. – С. 143–145.
8. *Караченцев Ю.И., Лях И.А., Македонская В.А.* Влияние аллотрансплантации криоконсервированной ткани щитовидной железы на гормональный и иммунный статус больных постоперационным гипотиреозом // *Пробл. криобиологии.* – 2001. – №1. – С. 65-69.
9. *Македонская В.А.* Аутооттрансплантация криоконсервированной ткани щитовидной железы в профилактике и лечении постоперационного гипотиреоза у больных диффузным токсическим зобом // *Пробл. криобиологии.* – 2001. – №3. – С. 70.
10. *Плохинский Н.А.* Математические методы в биологии. – М.: Изд-во МГУ, 1978. – 285 с.
11. *Ром-Бугославська О.С., Божко Т.С., Комарова І.В. та ін.* Доклінічне вивчення тиреостатичних та тиреоїдстимулюючих засобів // *Доклінічні дослідження лікарських засобів: Метод. рекомендації.* – Київ, 2001. – С. 409-420.
12. *Романенко О.Ю., Гридько О.М.* Результати вивчення перебігу захворювань щитовидної залози у осіб, що брали участь у ліквідації аварії на ЧАЕС, через 5-7 років після опромінення // *Ендокринологія.* – 1997. – Т. 2, №1. – С. 17-24.
13. *Руководство по клинической эндокринологии* / Под ред. Н.Т. Старковой. – СПб., 2002. – С.165-176.
14. *Скалецкий Н.Н., Шальнев Б.И.* Трансплантологические методы лечения сахарного диабета. – Рига, 1988. – С. 39-40.
15. *Сухих Г.Т.* Трансплантация фетальных клеток: настоящее и будущее // *Трансплантация фетальных тканей и клеток: Сб. научн. тр.* – М., 1998. – Т. 126. – Приложение 1. – С. 3- 12.
16. *Тронько М.Д., Дроздович І.І., Пастер І.Д.* Морфофункціональна характеристика гіпоталамо-гіпофізарної системи у щурів лінії Вістар з радіаційно індукованим гіпотиреозом в ранні строки після ксенотрансплантації органної культури щитовидної залози новонароджених поросят // *Ендокринологія.* – 2000. – Т.5, №1. – С. 29-34.
17. *Фадеев В.В.* Современные концепции диагностики и лечения гипотиреоза у взрослых // *Пробл. эндокринологии.* – 2004. – Т. 50, №20. – С. 37-54.

recipient's organism is observed by the second month and it practically disappears to the 4th month. At the background of gradual extinction of biological effect of FT tissue, its repeated engraftment results in a new powerful stimulation of thyroid function.

The results obtained indicate to the perspectiveness and expediency for this direction further elaboration, aiming to create the safe pathognomonic protocols for the thyroid gland disease correction. However the algorithm of optimal terms of repeated engraftments of FT tissues needs to be additionally studied.

References

1. *Thyroid gland diseases* / Ed. by L.I. Braverman. – Moscow, 2000. – 418 p.
2. *Gridko O.M.* Structural and functional state of thyroid gland in patients with nodular goiter, evacuated from a 30 km area of Chernobyl accident // *Vrachebnoe Delo.* – 1998. – N2. – P.29-33.
3. *Grischenko V.I.* Fundamental research and new biotechnologies for cell and tissue allotransplant procurement // *Transplantologiya.* – 2003. – Vol. 4, N1. – P. 16-20.
4. *Grischenko V.I., Yurchenko T.N., Prokopyuk O.S.* New cryobiological technologies for cell and tissue fetoplacental transplant procurement and their usage in medicine // *Transplantologiya.* – 2004. – N3. – P. 123-129.
5. *Gulchiy N.V., Avetisyan M.L., Stepanenko A.P. et al.* General tendencies of pathomorphism of thyroid gland surgical diseases after Chernobyl accident // *Vrachebnoe Delo.* – 1998. – N1. – P. 27-32.
6. *Deryapa N.R., Moshkin M.P., Posnyy V.S.* Problems of medical biorhythmology. – Moscow: Meditsina, 1985. – 206 p.
7. *Dolot V.D.* Study of the efficiency of clinical application of newborn piglet thyroid gland tissue culture transplantation as the method for hypothyrosis treatment // *Transplantologiya.* – 2003. – Vol. 4, N1. – P. 143-145.
8. *Karachentsev Yu.I., Lyakh I.A., Makedonskaya V.A.* Allotransplantation effect of cryopreserved thyroid gland tissue on hormonal and immune status of patients with postoperative hypothyrosis // *Problems of Cryobiology.* – 2001. – N1. – P.65-69.
9. *Makedonskaya V.A.* Autotransplantation of cryopreserved tissue of thyroid gland in prophylaxis and treatment of postoperational hypothyroidism in patients with diffuse toxic goiter // *Problems of Cryobiology.* – 2001. – N3. – P. 70.
10. *Plokhinsky N.A.* Mathematical methods in biology. – Moscow: Publishing House of Moscow State University. – 1978. – 285 p.
11. *Rom-Boguslavskaya O.S., Bozhko T.S., Komarova I.V. et al.* Pre-clinical studies of thyrostatic and thyrodstimulating means // *Pre-clinical studies of medicinal means: Methodical recommendations.* – Kyiv, 2001. – P. 409-420.
12. *Romanenko O.Yu., Gridko O.M.* Results of studies of thyroid gland disease proceeding in persons, participating in Chernobyl accident elimination 5-7 years after radiation exposure // *Endokrinologiya.* – 1997. – Vol. 2, N1. – P. 17-24.
13. *Manual on clinical endocrinology* /Ed. by N.T. Starkova. – St.-Petersburg, 2002. – P. 165-176.
14. *Skaletsky N.N., Shalnev B.I.* Transplantation methods for *Diabetes mellitus* treatment. – Riga. – 1988. – P. 39-40.
15. *Sukhikh G.T.* Transplantation of fetal cells: present and future Transplantation of fetal tissues and cells // *Bull. Exp. Biol. Med.* – Moscow, 1988. – Vol. 126, Annex 1. – P. 3-13.
16. *Tronko M.D., Drozdovich I.I., Paster I.D.* Morphofunctional characteristics of hypothalamus-hypophysis system in Wistar rats with radiation induced hypothyrosis in early terms after

18. *Dordevic P.V.* Human fetal islet transplantation of IDDM patients: an 8-year experience // *Transplant. Proc.*– 1995.– N12.– P. 3146-3147.
19. *Farkas G., Degi R., Voros P.* Long term effects of fetal islet transplantation on complication of diabetes, as compared with effects of intensive insulin therapy // *Transplant. Proc.*– 1995.– N10.– P. 3145.
20. *Fine A.* Transplantation of etal cells and tissues: an overview // *Can. Med. Assoc. J.*– 1994.– N4.– P. 1261-1268.
21. *Michael L.G.* Live cell therapy.– Tijuana, 2001.– 108 p.
22. *Reinberg A.* Advances in clinical chronopharmacology // *Trends Pharmacol.*– 1979.– Vol. 1.– P. 81-83.
23. *Shimmizu R.K., Nagahama M., Kitamura Y. et al.* Autotransplantation of cryopreserved thyroid tissue for the treatment of irreversible postoperative hypothyroid Graves' disease, Report of the fist case // *Thyroidol. Clin. Exp.*– 1997.– N9.– P. 23-26.
24. *Wong C., Dohler K.* Seasonal variation of basel serum TSH, prolactin and FSH level in adult male laboratory rats // *Acta Endocrinol.*– 1980.– Vol. 94, N234.– P. 62-63.
17. *Fadeyev V.V.* Current concepts of hypothyrosis diagnostics and treatment in adults // *Problemy Endokrinologii.*– 2004.– Vol. 50, N20.– P. 37-54.
18. *Dordevic P.V.* Human fetal islet transplantation of IDDM patients: an 8-year experience // *Transplant. Proc.*– 1995.– N12.– P. 3146-3147.
19. *Farkas G., Degi R., Voros P.* Long term effects of fetal islet transplantation on complication of diabetes, as compared with effects of intensive insulin therapy // *Transplant. Proc.*– 1995.– N10.– P. 3145.
20. *Fine A.* Transplantation of etal cells and tissues: an overview // *Can. Med. Assoc. J.*– 1994.– N4.– P. 1261-1268.
21. *Michael L.G.* Live cell therapy.– Tijuana, 2001.– 108 p.
22. *Reinberg A.* Advances in clinical chronopharmacology // *Trends Pharmacol.*– 1979.– Vol. 1.– P. 81-83.
23. *Shimmizu R.K., Nagahama M., Kitamura Y. et al.* Autotransplantation of cryopreserved thyroid tissue for the treatment of irreversible postoperative hypothyroid Graves' disease, Report of the fist case // *Thyroidol. Clin. Exp.*– 1997.– N9.– P. 23-26.
24. *Wong C., Dohler K.* Seasonal variation of basel serum TSH, prolactin and FSH level in adult male laboratory rats // *Acta Endocrinol.*– 1980.– Vol. 94, N234.– P. 62-63.

Надійшла 12.06.2007

Accepted in 12.06.2007