

doi 10.18524/2077-1746.2021.2(49).246890

УДК 316.441+615.874.24

**Р. В. Янко**, к. б. н., старший науковий співробітник

Інститут фізіології ім. О. О. Богомольця НАНУ, відділ клінічної фізіології  
сполучної тканини, вул. Богомольця, 4, Київ, 01024, Україна, e-mail: biolag@ukr.net

## ВПЛИВ АЛІМЕНТАРНОЇ ДЕПРИВАЦІЇ НА МОРФОЛОГІЧНІ ЗМІНИ ЩИТОПОДІБНОЇ ЗАЛОЗИ ЩУРІВ

Проведено дослідження впливу зниженого по масі на 30% харчового раціону на стан щитоподібної залози щурів, де було виявлено морфологічні ознаки зростання її функціональної активності. На це вказує зменшення розмірів фолікулів і колоїду, зниження внутрішнього діаметру фолікулів і збільшення висоти тиреоцитів, зростання стереологічного індексу резорбції та зниження індексу накопичення колоїду, збільшення кількості інтерфолікулярних острівців.

**Ключові слова:** щитоподібна залоза; аліментарна депривація.

Питання про механізми дії голодування, а також про оптимальні режими його застосування в оздоровчих і лікувальних цілях залишаються в центрі уваги дослідників до теперішнього часу. Відомо, що помірне обмеження харчового раціону має позитивний ефект на більшість процесів життєдіяльності організму. Тоді як тривале повне голодування або не повноцінне харчування, навпаки, знижує адаптаційні можливості організму і прискорює настання смерті. Встановлено, що в основі позитивного ефекту дозованого голодування лежать такі важливі фізіологічні механізми, як: аутоліз нежиттєздатних клітинних структур; активне звільнення організму від кінцевих продуктів обміну речовин, ендотоксинів, включаючи метаболіти ліків, чужорідних антигенів; зміна стану рецепторного апарату клітин; підвищення активності факторів неспецифічної резистентності за одночасної стимуляції процесів регенерації тощо [8]. Все це слугує підставою для широкого використання аліментарної депривації (АД) у медичній практиці для лікування і профілактики різних захворювань [10, 14].

Але, незважаючи на добре вивчений ефект від АД на організм, літературні дані щодо її впливу на функціональну активність і, особливо, на морфологічні зміни в щитоподібній залозі (ЩЗ) поодинокі, і часто суперечливі, що не дозволяє зробити однозначних висновків. Більшість дослідників вивчали зміни концентрації тиреоїдних гормонів у крові людей і тварин, які отримували обмежений за калорійністю раціон харчування [12, 13, 15]. Дані літератури про те, як змінюється морфологічна структура ЩЗ при АД і зовсім поодинокі [1, 3, 4].

**Мета роботи** – дослідити вплив аліментарної депривації на морфологічні зміни щитоподібної залози молодих щурів.

### **Матеріали та методи дослідження**

Дослідження проведено на 24 щурах-самцях лінії Wistar віком 3 місяці. Тварини перебували в уніфікованих умовах, на стандартному раціоні харчування. Щури були розділені на 2 групи (по 12 тварин у кожній): I – контрольні тварини, II – щури, які отримували харчовий раціон знижений по масі на 30% порівняно з контрольними тваринами. Добовий раціон харчування для щура контрольної групи становив 20 г (65 ккал) спеціалізованого комбікорму, а для дослідної тварини – 14 г (45 ккал). Такий ступінь зниження калорійності раціону за класифікацією Мак Кея С.М. відносять до «м'якої» АД, яка здатна продовжувати тривалість життя, підвищувати ефективність функціонування молекулярних і клітинних систем, збільшувати адаптаційні можливості організму. Доступ до води був вільним. Тривалість експерименту становила 28 діб. Щурів виводили з експерименту шляхом дислокації шийних хребців, відповідно до вимог міжнародних принципів Європейської конвенції.

З центральних ділянок тканини ЩЗ виготовляли гістологічні препарати за стандартною методикою: фіксували в рідині Буена, зневоднювали в спиртах зростаючої концентрації (від 70 до 96 °) і діоксані. Отримані зразки заливали у парафін. Парафінові зрізи, товщиною 5–6 мкм, виготовляли на санному мікроскопі, фарбували гематоксиліном Бемера і еозином. Для візуалізації елементів сполучної тканини застосовували методи дво- і триколірного забарвлення по Ван-Гізону і Массону [9]. З використанням цифрової камери мікропрепарати фотографували на мікроскопі «Nikon Eclipse E100» (Японія). Морфометрію здійснювали за допомогою комп'ютерної програми «Image J».

На гістологічних зрізах ЩЗ вимірювали площу поперечного перерізу фолікулів, колоїду і фолікулярного епітелію; зовнішній і внутрішній діаметри фолікулів; висоту фолікулярного епітелію. Підраховували середню кількість тиреоцитів у фолікулах. Визначали фолікулярно-колоїдний індекс (відношення площі фолікулярного епітелію до площі колоїду), стереологічний індекс резорбції ( $4/h$ , де  $h$  – середня довжина хорд відрізків ліній, що припадають на колоїд) і індекс накопичення колоїду (відношення середнього внутрішнього діаметру до подвійної висоти тиреоїдного епітелію). За використання методу накладання точкових морфометричних сіток вираховували відносну площу сполучної тканини, паренхіми залози, визначали стромально-паренхіматозний індекс (відношення відносної площі строми до відносної площі паренхіми залози). Вимірювали ширину прошарків міжчасткової, міжчасточкової і міжфолікулярної сполучної тканини [5, 16].

Статистичне опрацювання здійснювали методами варіаційної статистики за допомогою комп'ютерної програми Statistica 6.0. Нормальність розподілу

цифрових масивів перевіряли, використовуючи критерій Пірсона. Для оцінки коефіцієнта відмінностей достовірності різниці між контрольною і дослідною групою використовували t-критерій Стьюдента. Відмінності вважали достовірними при значенні  $p < 0,05$ .

### Результати досліджень та їх обговорення

Маса тіла контрольних щурів за час експерименту збільшилася на 10,0%, а тварин, які перебували на АД, навпаки, зменшилася на 8,9%. У дослідних щурів маса ЩЗ була нижчою від контролю на 20,0% ( $p < 0,05$ ) (табл. 1).

Таблиця 1

Маса тіла і щитоподібної залози, г ( $n = 12, M \pm m$ )

Показники	Контроль	Дослід
Маса тіла на початку експерименту	271±5	313±4
Маса тіла в кінці експерименту	298±7	285±6
Маса щитоподібної залози	0,020±0,001	0,016±0,001*

Примітка: \*  $p < 0,05$  – достовірність відмінностей у порівнянні з контролем

ЩЗ щурів, після впливу АД, зберігала фізіологічну структуру з чітким розподілом на центральну і периферичну зони. Фолікули залози були різної величини і мали, переважно, овальну форму. Колоїд фолікулів контрольних тварин був помірної щільності і містив невелику кількість резорбційних вакуолей. Колоїд фолікулів ЩЗ дослідних тварин був помірної щільності, але часто мав «пінистий» характер через наявність численних вакуолей (рис. 1).

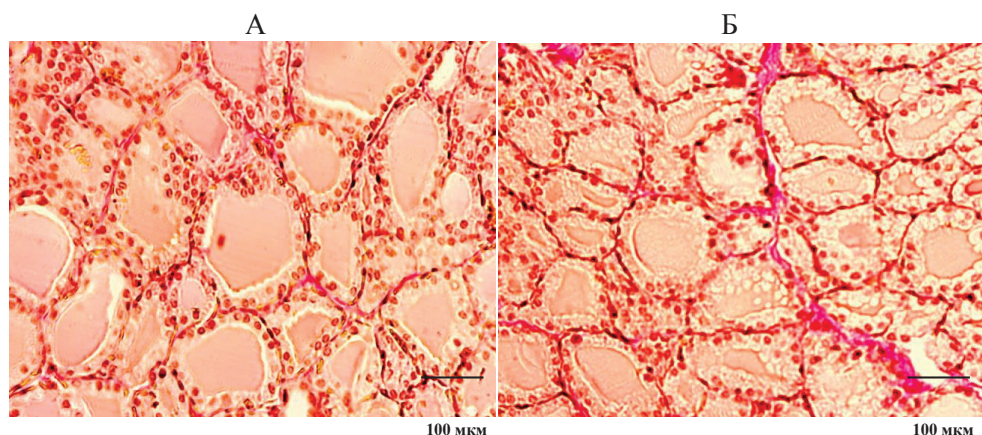


Рис. Мікрофотографія зрізу щитоподібної залози контрольної тварини (А) та щура після впливу аліментарної депривації (Б). Забарвлення за методом Ван-Гізона. Збільшення 400

У ЩЗ щурів, після впливу АД, спостерігали вірогідно меншу площу поперечного перерізу фолікулів та колоїду на 11,3% і 12,8% відповідно, ніж у контролі. Внутрішній діаметр фолікулів дослідних тварин також був достовірно меншим на 13,8%. Тиреоцити часто мали призматичну форму, а висота їх була на 9,3% більшою від контролю (табл. 2). Це може свідчити про підвищення активності залози, активну резорбцію тиреоглобуліну і секрецію гормонів у кровоносне русло [2].

У ЩЗ щурів, після впливу АД, виявлено вірогідне зростання стереологічного індексу резорбції на 15,7%. Цей показник характеризує динаміку накопичення і виведення інтрафолікулярного колоїду. Тоді як індекс накопичення колоїду, навпаки, був достовірно меншим на 21,0%. Фолікулярно-колоїдний індекс в ЩЗ дослідних тварин залишався на рівні контролю (табл. 2). Зростання стереологічного індексу резорбції та зниження індексу накопичення колоїду свідчить про посилення секреції тиреоїдних гормонів у кровоносне русло [7].

Таблиця 2

**Морфометричні показники щитоподібної залози (n = 12, M ± m)**

Показники	Контроль	Дослід
<b>Паренхіма</b>		
Відносна площа,%	74,8±2,64	75,3±2,3
Площа, мкм <sup>2</sup>		
фолікула	3075±87	2727±74*
колоїду	1223±44	1066±97*
фолікулярного епітелію	1853±93	1661±83
Діаметр фолікула, мкм		
зовнішній	56,5±1,2	53,7±1,9
внутрішній	34,9±1,3	30,1±1,2*
Висота тиреоцитів, мкм	10,8±0,6	11,8±0,4
Фолікулярно-колоїдний індекс	1,52±0,05	1,56±0,04
Індекс накопичення колоїду	1,62±0,08	1,28±0,09*
Стереологічний індекс резорбції	0,115±0,003	0,133±0,007*
Кількість тиреоцитів в фолікулі, шт.	22,2±0,7	20,9±0,6
<b>Сполучна тканина</b>		
Відносна площа,%	25,2±1,6	24,7±1,3
Стромально-паренхіматозний індекс	0,34±0,04	0,33±0,04
Ширина прошарків сполучної тканини, мкм		
міжчасткової	24,9±0,9	21,4±0,8*
міжчасточкової	7,5±0,8	8,1±0,5
міжфолікулярної	1,68±0,08	1,37±0,07*

Примітка: \* p < 0,05 – достовірність відмінностей у порівнянні з контролем

У щурів, які перебували на АД, спостерігали тенденцію до збільшення кількості інтерфолікулярних острівців, що можна розглядати як ознаку активації процесів фолікулогенезу (регенерації) ЩЗ. Встановлено, що інтерфолікулярні

острівці містять малодиференційовані клітини, які можуть бути джерелом для формування нових фолікулів [5].

У ЩЗ дослідних щурів виявлено тенденцію до зниження відносної площі строми і стромально-паренхіматозного індексу. Також у цих тварин спостерігали вірогідне зниження ширини прошарків міжчасткової (на 14,1%) і міжфолікулярної (на 18,5%) сполучної тканини (табл. 2). Зменшення відносної площі строми і, відповідно, збільшення відносної частки паренхіматозних елементів у залозі може розглядатися як однією з ознак активації її функції і підвищення регенераторних можливостей. Очевидно, що зменшення ширини прошарків і маси сполучної тканини ЩЗ в цілому поліпшує міжфолікулярний обмін речовин і проникнення гормонів у кров.

Літературні дані, які були б присвячені впливу АД на ЩЗ, поодинокі, а наявні результати мають неоднозначний характер. Переважно досліджували концентрацію тиреоїдних гормонів в крові людей і тварин, які отримували знижений раціон харчування за калорійністю. Виявлено, що обмеження харчування по-різному впливає на концентрацію тиреоїдних гормонів у сироватці крові щурів. Так, у тварин, які отримували знижений раціон харчування помітили, що концентрація тироксину (Т4) в сироватці крові не змінилася, концентрація трийодтироніну (Т3) – знизилась, а зворотнього Т3, навпаки, зросла [11]. Інші вчені виявили зниження всіх гормонів ЩЗ в крові після впливу обмеженого харчування [6, 12, 15]. Тоді як деякі дослідники спостерігали, що після впливу місячної низькокалорійної дієти концентрація Т3 і Т4 в крові істотно зростає, а концентрація тиреотропного гормону, навпаки, знижується [13].

Морфологічні зміни в ЩЗ, після впливу обмеженого харчування, спостерігали й інші дослідники. Так, після інтервального голодування (1 день повне голодування / 1 день стандартний раціон) протягом місяця у щурят виявлено наявність порожніх фолікулів і периферичних вакуолей, що вважається ознакою гіперактивності залози [4]. В іншому дослідженні, проведеному на щурах лінії Wistar різного віку, показано, що після закінчення періоду повного голодування в ЩЗ спостерігаються морфологічні ознаки підвищення функціональної активності тиреоцитів і посилення активності мікроциркуляторного русла. Зі збільшенням термінів голодування ці зміни наростають, а потім змінюються ознаками пригнічення функції ЩЗ [1]. Неоднозначність результатів може бути пов'язана з використанням в експериментах різних режимів обмеження харчування, тварин або людей різного віку, тривалістю проведення дослідів тощо.

Таким чином, у молодих щурів, які перебували на зниженому харчовому раціоні по масі на 30%, виявили морфологічні ознаки підвищення функціональної активності ЩЗ. На це вказує зменшення розмірів фолікулів і колоїду, зниження внутрішнього діаметра фолікулів і збільшення висоти тиреоцитів, зростання стереологічного індексу резорбції та зниження індексу накопичення колоїду, наявність численних резорбційних вакуолей в колоїді фолікулів, збільшення чисельності інтерфолікулярних острівців, зменшення кількості строми в залозі.

Проте, виявлені морфологічні зміни ЩЗ, після впливу АД, потребують подальшого дослідження і уточнення. Як відомо, з віком реакція організму на різні чинники може як посилюватися, так і знижуватися порівняно з молодим віком. Тому, доцільно провести такі дослідження на щурах старшого віку. Крім того, невідомо через який саме механізм впливає обмежене харчування на залозу. Все це вимагає більш детального вивчення ролі та механізмів впливу АД на ЩЗ.

### Висновки

1. Вплив аліментарної депривації (зниженого харчового раціону по масі на 30%) протягом 28 діб у молодих щурів призводить до появи морфологічних ознак підвищення функціональної активності щитоподібної залози.

2. Ці дані можуть мати не тільки теоретичне значення, але і становити певний практичний інтерес при використанні обмеженого харчування для активації щитоподібної залози.

Стаття надійшла до редакції 22.07.2021

### Список використаної літератури

1. Мгалобишвили З.Г. Изменение структуры щитовидной железы у 24-месячных крыс при голодании / З.Г. Мгалобишвили // Сакартвелос самедицино моамбе.– 1992.– № 1.– С. 65–66.
2. Юлдашева Ф.З. Ультраструктурная характеристика тиреоцитов при гипо- и гиперфункции щитовидной железы / Ф.З. Юлдашева, А.Ю. Юлдашев, С.И. Исмаилов, М.М. Рашитов // Клиническая тиреондология.– 2011.– Т. 35, № 3.– С. 132–135.
3. Янко Р.В. Морфологические изменения щитовидной железы крыс после интервального голодания / Р.В. Янко // Эндокринология.– 2020.– Т. 25, № 2.– С. 137–142. doi: 10.31793/1680-1466.2020.25-2.137.
4. Fetoui H. Food restriction induced thyroid changes and their reversal after refeeding in female rats and their pups / H. Fetoui, H. Bouaziz, A. Mahjoubi-Samet [et. al.] // Acta Biol Hung.– 2006. Vol. 57, № 4.– P. 391–402.
5. Khan Y.S. Histology, Thyroid Gland / Y.S. Khan, A. Farhana. // [Updated 2021 May 10]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2021 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK551659>.
6. Lachowicz K. The effects of caloric restriction and age on thyroid hormone signalling in the heart of rats / K. Lachowicz, E. Fuerstenberg, E. Pałkowska [et al.] // Journal of Animal and Feed Sciences.– 2014.– Vol. 23.– P. 97–104.
7. Lee J. Morphological and functional changes in the thyroid follicles of the aged murine and humans / J. Lee, S. Yi, Y. Kang [et al.] // J Pathol Transl Med.– 2016.– Vol. 50, № 6.– P. 426–435.
8. Longo V.D. Fasting: molecular mechanisms and clinical applications / V.D. Longo, M.P. Mattson // Cell Metab.– 2014.– Vol. 19, № 2.– P. 181–192. doi: 10.1016/j.cmet.2013.12.008.
9. Malatesta M. Histological and histochemical methods – Theory and practice / M. Malatesta // Eur J Histochem.– 2016.– Vol. 60, № 1.– P. 2639. doi: 10.4081/ejh.2016.2639.
10. Mattson M. Meal frequency and timing in health and disease / M. Mattson, D. Allison, L. Fontana [et al.] // Proc Natl Acad Sci USA.– 2014.– Vol. 111, № 47.– P. 16647–16653. doi: 10.1073/pnas.1413965111.
11. Moreira-Andres M.N. The effect of calorie restriction on serum thyroid hormone binding proteins and free hormone in obese patients / M.N. Moreira-Andres, E.G. Black, D.V. Ramsden [et al.] // Clin Endocrinol (Oxf).– 1980.– Vol. 12, № 3.– P. 249–255.
12. Roth G.S. Effects of dietary caloric restriction and aging on thyroid hormones of rhesus monkeys / G.S. Roth, A.M. Handy, J.A. Mattison [et al.] // Horm Metab Res.– 2002.– Vol. 34.– P. 378–382.
13. Sultan S. Effect of low calorie diet and exercise on thyroid hormones and leptin levels / S. Sultan, L. Rashed // Med. J. Cairo Univ.– 2009.– Vol. 77, № 1.– P. 33–39.
14. Weiss E.P. Caloric restriction: powerful protection for the aging heart and vasculature / E.P. Weiss, L. Fontana // Am J Physiol Heart Circ Physiol.– 2011.– Vol. 301, № 4.– P. H1205–H1219. doi: 10.1152/ajpheart.00685.2011.

15. Weiss E. P. Caloric restriction but not exercise-induced reductions in fat mass decrease plasma triiodothyronine concentrations: a randomized controlled trial / E. P. Weiss, D. T. Villareal, S. B. Racette [et al.] // Rejuvenation research. – 2008. – Vol. 11, № 3. – P. 605–609. doi:10.1089/rej.2007.0622.
16. Yanko R. V. Effect of interval fasting on morphological changes in the rat thyroid gland of different age / R. V. Yanko, M. I. Levashov // Biological sciences of Kazakhstan. – 2021. – № 1. – P. 8–18. doi: 10.52301/1684-940X-2021-1-8-18.

### **Р. В. Янко**

Інститут фізіології ім. О. О. Богомольця НАНУ, відділ клінічної фізіології сполучної тканини, вул. Богомольця, 4, Київ, 01024, Україна

## **ВПЛИВ АЛІМЕНТАРНОЇ ДЕПРИВАЦІЇ НА МОРФОЛОГІЧНІ ЗМІНИ ЩИТОПОДІБНОЇ ЗАЛОЗИ ЩУРІВ**

### **Резюме**

**Актуальність проблеми:** Незважаючи на добре вивчений ефект від аліментарної депривації на організм, літературні дані щодо її впливу на функціональну активність і, особливо, на морфологічні зміни в щитоподібній залозі (ЩЗ) поодинокі, і часто суперечливі, що не дозволяє зробити однозначних висновків. Все це вимагає більш детального вивчення ролі та механізмів впливу обмеженого харчування на ЩЗ.

**Мета:** Дослідження впливу аліментарної депривації на морфологічні зміни щитоподібної залози молодих щурів.

**Методи дослідження:** Дослідження проведено на 24 щурах-самцях лінії Wistar віком 3 місяці. Щури всіх груп перебували в уніфікованих умовах, на стандартному раціоні харчування. Тварини дослідної групи, протягом 28 діб, отримували харчовий раціон знижений по масі на 30%. Роботу з щурами проводили відповідно до принципів Гельсінської декларації. З центральних ділянок тканини ЩЗ виготовляли гістологічні препарати за стандартною методикою. З використанням цифрової камери мікропрепарати фотографували на мікроскопі «Nikon Eclipse E100» (Японія). Морфометрію здійснювали за допомогою комп'ютерної програми «Image J».

**Основні результати дослідження:** При гістологічному аналізі ЩЗ щурів, які зазнавали впливу аліментарної депривації, виявлено, що вона має не змінену фізіологічну структуру. Фолікули переважно овальної форми та різних розмірів. Колоїд у фолікулах дослідних тварин помірної щільності та містить численні резорбційні вакуолі. Тиреоцити призматичної та кубічної форми. Виявлено, що в ЩЗ дослідних щурів зменшується площа фолікулів, колоїду, їх внутрішній діаметр, зростає висота тиреоцитів, збільшується стереологічний індекс резорбції і знижується індекс накопичення колоїду, збільшується кількість інтерфолікулярних острівців. Також у дослідних тварин відмічено зниження ширини прошарків міжчасткової та міжфолікулярної сполучної тканини.

**Висновки:** У щурів, які перебували на зниженому харчовому раціоні, виявили морфологічні ознаки підвищення функціональної активності щитоподібної залози.

**Ключові слова:** щитоподібна залоза; аліментарна депривація.

**R. V. Yanko**

Bogomoletz Institute of Physiology of NAS of Ukraine; 4 Bogomoletz str., Kyiv, 01024, Ukraine.

## **INFLUENCE OF ALIMENTARY DEPRIVATION ON MORPHOLOGICAL CHANGES OF RAT'S THYROID GLAND**

### **Abstract**

**Introduction:** Despite the well-studied effect of alimentary deprivation on the body, the literature data on its effect on functional activity and, in particular, on morphological changes in the thyroid gland are single and often contradictory, which does not allow unambiguous conclusions. All this requires a more detailed study of the role and mechanisms of the impact of restricted nutrition on the thyroid gland.

**Aim:** To investigate the effect of alimentary deprivation on morphological changes in the thyroid gland of young rats.

**Methods:** The study was conducted on 24 male Wistar rats aged 3 months. Rats of all groups were in uniform conditions, on a standard diet. Animals of the experimental group, for 28 days, received a diet reduced by 30%. Work with rats was carried out in accordance with the principles of the Declaration of Helsinki. Histological preparations were made from the central areas of the thyroid tissue according to the standard method. Using a digital camera, the micropreparations were photographed under a Nikon Eclipse E100 microscope (Japan). Morphometry was performed using a computer program «Image J».

**Results:** Histological analysis of the rat's thyroid gland affected by alimentary deprivation revealed that it had an unchanged physiological structure. The follicles were mostly of oval shape and of various sizes. Colloid in the follicles of experimental animals is of moderate density and contains numerous resorption vacuoles. Thyroid cells are of prismatic and cubic shape. It was found that in the thyroid gland of experimental rats the area of follicles, colloid, their inner diameter decreases, the height of thyrocytes increases, the stereological resorption index increases and the colloid accumulation index decreases, the number of interfollicular islands increases. Also in experimental animals there was a decrease in the width of the interlobar and interfollicular connective tissue.

**Conclusion:** In rats fed on a reduced diet, morphological signs of increased functional activity of the thyroid gland were found.

**Key words:** thyroid gland; alimentary deprivation.

### **References**

1. Mgalobishvili Z. G. (1992) "Change in the structure of the thyroid gland in 24-month-old rats during fasting" [Izmeneniye struktury shchitovidnoy zhelezy u 24-mesyachnykh kryss pri golodanii']. *Sakartvelos sameditsino moambe*, 1, pp 65–66.
2. Yuldasheva F.Z., Yuldashev A. Yu., Ismailov S.I., Rashitov M.M. (2011) "Ultrastructural description of thyrocytes in thyroid hypo- and hyperactivity" ["Ul'trastrukturnaya kharakteristika tireotsitov pri gipoi giperfunktsii shchitovidnoy zhelezy"]. *Klinicheskaya tireoidologiya*. 35, 3, pp 132–135.
3. Yanko R.V. (2020) "Morphological changes in the thyroid gland of rats after intermittent fasting" ["Morfologicheskiye izmeneniya shchitovidnoy zhelezy kryss posle interval'nogo golodaniya"]. *Endokrinologiya*. 25, 2, pp 137–142. doi: 10.31793/1680–1466.2020.25–2.137.



4. Fetoui H., Bouaziz H., Mahjoubi-Samet A., Soussia L., Guermazi F., Zeghal N. (2006) "Food restriction induced thyroid changes and their reversal after refeeding in female rats and their pups". *Acta Biol Hung.* 57, 4, pp 391–402.
5. Khan YS, Farhana A. (2021) "Histology, Thyroid Gland". [Updated 2021 May 10]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK551659>.
6. Lachowicz K., Fuerstenberg E., Pałkowska E., Stachoń M., Gajewska D., Myszkowska-Ryciak J., Kozłowska L., Ciecierska A., Rosołowska-Huszcz D. (2014) "The effects of caloric restriction and age on thyroid hormone signalling in the heart of rats". *Journal of Animal and Feed Sciences.* 23, pp 97–104.
7. Lee J., Yi S., Kang Y.E., Kim H.W., Joung KH, Sul HJ, Kim KS, Shong M. (2016) "Morphological and functional changes in the thyroid follicles of the aged murine and humans". *J Pathol Transl Med.* 50, 6, pp 426–435.
8. Longo V.D., Mattson M.P. (2014) "Fasting: molecular mechanisms and clinical applications". *Cell Metab.* 19, 2, pp 181–192. doi: 10.1016/j.cmet.2013.12.008.
9. Malatesta M. (2016) "Histological and histochemical methods – Theory and practice". *Eur J Histochem.* 60, 1, pp 2639. doi: 10.4081/ejh.2016.2639.
10. Mattson M., Allison D., Fontana L., Harvie M., Longo V., Malaisse W., Mosley M., Notterpek L., Ravussin E., Scheer F.A., Seyfried T.N., Varady K.A., Panda S. (2014) "Meal frequency and timing in health and disease". *Proc Natl Acad Sci USA.* 111, 47, pp 16647–16653. doi: 10.1073/pnas.1413965111.
11. Moreira-Andres M. N., Black E.G., Ramsden D.B., Hoffenberg R. (1980) "The effect of calorie restriction on serum thyroid hormone binding proteins and free hormone in obese patients". *Clin Endocrinol (Oxf).* 12, 3, pp 249–255.
12. Roth G.S., Handy A.M., Mattison J.A., Tilmont E.M., Ingram D.K., Lane M.A. (2002) "Effects of dietary caloric restriction and aging on thyroid hormones of rhesus monkeys". *Horm Metab Res.* 34, pp 378–382.
13. Sultan S., Rashed L. (2009) "Effect of low calorie diet and exercise on thyroid hormones and leptin levels". *Med. J. Cairo Univ.* 77, 1, pp 33–39.
14. Weiss E.P., Fontana L. (2011) "Caloric restriction: powerful protection for the aging heart and vasculature". *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 301, 4, pp H1205–H1219. doi: 10.1152/ajpheart.00685.2011.
15. Weiss E.P., Villareal D.T., Racette S.B., Steger-May K, Premachandra B.N., Klein S., Fontana L. (2008) "Caloric restriction but not exercise-induced reductions in fat mass decrease plasma triiodothyronine concentrations: a randomized controlled trial". *Rejuvenation research.* 11, 3, pp 605–609. doi:10.1089/rej.2007.0622.
16. Yanko R.V., Levashov M.I. (2021) "Effect of interval fasting on morphological changes in the rat thyroid gland of different age". *Biological sciences of Kazakhstan.* 1, pp 8–18. doi: 10.52301/1684-940X-2021-1-8-18.