

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích

Zemědělská fakulta

Disertační práce

Parametry štítné žlázy přežvýkavců při nutriční zátěži jódem

Ing. Zdeněk Peksa

2014

Vypracoval:

Ing. Zdeněk Peksa

Studijní program: Zootechnika

Studijní obor: Zoohygiena a prevence chorob hospodářských zvířat

Školitel:

prof. Ing. Jan Trávníček, CSc.

Katedra veterinárních disciplín a kvality produktů

Zemědělská fakulta

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích

Prohlašuji, že jsem disertační práci vypracoval samostatně na základě vlastních zjištění a za pomoci uvedené literatury.

Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním své disertační práce, a to v nezkrácené podobě elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejich internetových stránkách, a to se zachováním mého autorského práva k odevzdanému textu této kvalifikační práce. Souhlasím dále s tím, aby toutéž elektronickou cestou byly s uvedeným ustanovením zákona č. 111/1998 Sb. zveřejněny posudky školitele a oponentů práce i záznam o průběhu a výsledku obhajoby kvalifikační práce. Rovněž souhlasím s porovnáním textu mé kvalifikační práce s databází kvalifikačních prací Theses.cz provozovanou Národním registrem vysokoškolských kvalifikačních prací a systémem na odhalování plagiátů

V Českých Budějovicích dne..... Ing. Zdeněk Peksa

Poděkování:

Rád bych touto cestou poděkoval panu prof. Ing. Janu Trávníčkovi, CSc. za odborné vedení a dále všem pracovníkům katedry veterinárních disciplín zemědělské fakulty Jihočeské univerzity v Českých Budějovicích, kteří se podíleli na organizaci experimentů či odběru a zpracování vzorků.

Obsah

1	Úvod	11
2	Literární přehled	12
2.1	Makroskopická stavba štítné žlázy	12
2.2	Krevní zásobení štítné žlázy	12
2.3	Lymfatický systém štítné žlázy	13
2.4	Inervace štítné žlázy	14
2.5	Mikroskopická stavba.....	14
2.5.1	Struma.....	15
2.5.1.1	Parenchymatózní struma	16
2.5.1.2	Koloidní struma.....	17
2.6	Embryonální vývoj štítné žlázy	18
2.7	Vývojové anomálie štítné žlázy.....	19
2.7.1	Štítná žláza ovcí.....	21
2.7.2	Štítná žláza skotu	23
2.8	Funkce štítné žlázy	24
2.8.1	Hormony štítné žlázy.....	24
2.8.1.1	Biosyntéza hormonů štítné žlázy.....	25
2.8.1.2	Význam selenu na metabolismus jódu ve štítné žláze	28
2.8.2	Řízení funkce štítné žlázy.....	28
2.8.3	Účinky hormonů štítné žlázy na organismus.....	30
2.9	Strumigenní látky a jejich dopad na metabolismus štítné žlázy.....	31
2.10	Potřeba jódu pro přežvýkavce	32
2.10.1	Obsah jódu v krmivech rostlinného původu.....	32
2.11	Dopad neúměrných dávek jódu na strukturu a funkci štítné žlázy.....	33
2.11.1	Dopad nedostatečných dávek jódu na štítnou žlázu	33
2.11.2	Dopad vysokých dávek jódu na štítnou žlázu	33
2.11.3	Dopad příjmu jódu a funkce štítné žlázy na metabolismus přežvýkavců.....	35

3	Cíl disertační práce	37
4	Materiál a metodika	38
4.1	Charakteristika pokusů na ovcích a popis jejich organizace	38
4.1.1	Pokus č. 1: Vliv diferencovaného příjmu jódu a selenu na morfometrické parametry štítné žlázy jehňat	38
4.1.2	Pokus č. 2: Vliv dlouhodobého příjmu vysokých dávek jódu na morfometrické parametry štítné žlázy ovcí, jejich jehňat a jalových jehnic	39
4.1.2.1	Charakteristika skupin jehňat (pokus č. 2)	40
4.1.3	Pokus č. 3: Vliv příjmu vysokých dávek jódu a strumigenních látek na morfometrické parametry štítné žlázy jehnic	41
4.1.4	Morfologické a morfometrické parametry štítné žlázy jatečného skotu	41
4.2	Metody a laboratorní postupy	42
4.2.1	Postup barvení histologických řezů hematoxylinem a eosinem	43
4.2.2	Imunohistochemické barvení (PCNA)	43
4.2.3	Měření morfometrických parametrů a zjišťování proliferační aktivity (PCNA) tyreocytů	44
4.2.3.1	Měření rozměrů folikulů	44
4.2.3.2	Stanovení proliferační aktivity (PCNA) tyreocytů	44
4.2.4	Stanovení koncentrace jódu ve štítné žláze	44
4.2.5	Stanovení hmotnosti a relativní hmotnost štítné žlázy	45
4.2.6	Statistické hodnocení výsledků	45
5	Výsledky a diskuze	46
5.1	Pokus č. 1 - Vliv diferencovaného příjmu jódu a selenu na morfometrické parametry štítné žlázy jehňat	46
5.1.1	Hmotnost a relativní hmotnost štítné žlázy jehňat	46
5.1.2	Histometrické parametry štítné žlázy jehňat	47
5.1.2.1	Délka, šířka a plocha folikulů jehňat	47
5.1.2.2	Procentuální zastoupení jednotlivých velikostních kategorií folikulů ...	50
5.1.2.3	Výška folikulárního epitelu jehňat	51
5.1.3	Koncentrace jódu ve štítné žláze a proliferační aktivita folikulárního epitelu (PCNA) u jehňat	52
5.1.4	Souhrn výsledků	54

5.2	Pokus č. 2 – Vliv dlouhodobého příjmu vysokých dávek jódu na morfometrické parametry štítné žlázy ovcí, jejich jehňat a jalových jehnic	55
5.2.1	Hmotnost a relativní hmotnost štítné žlázy bahnic a jehnic	55
5.2.2	Velikostní charakteristika folikulů a epitelu u bahnic a jehnic	56
5.2.2.1	Délka, šířka a plocha folikulů bahnic a jehnic	56
5.2.2.2	Procentuální zastoupení velikostních kategorií folikulů bahnic a jehnic	59
5.2.2.3	Výška folikulárního epitelu bahnic a jehnic.....	60
5.2.3	Koncentrace jódu ve štítné žláze a proliferační aktivita folikulárního epitelu (PCNA) bahnic a jehnic.....	61
5.2.4	Histologické vyšetření	62
5.2.5	Parametry štítné žlázy jehňat – pokus č. 2	63
5.2.5.1	Hmotnost a relativní hmotnost štítné žlázy jehňat	63
5.2.5.2	Velikostní parametry folikulů a epitelu jehňat.....	64
5.2.5.2.1	Délka, šířka a plocha folikulů jehňat	64
5.2.5.2.2	Procentuální zastoupení jednotlivých velikostních kategorií folikulů jehňat.....	66
5.2.5.2.3	Výška epitelu jehňat.....	67
5.2.5.3	Proliferační aktivita folikulárního epitelu (PCNA) štítné žlázy jehňat ..	68
5.2.5.4	Histologické vyšetření.....	69
5.2.6	Souhrn výsledků	70
5.3	Pokus č. 3 - Vliv příjmu vysokých dávek jódu a strumigenních látek na morfometrické parametry štítné žlázy jehnic	71
5.3.1	Hmotnost a relativní hmotnost štítné žlázy jehnic.....	71
5.3.2	Velikostní charakteristiky folikulů štítné žlázy a folikulárního epitelu jehnic.....	72
5.3.2.1	Délka, šířka a plocha folikulů jehnic.....	72
5.3.2.2	Procentuální zastoupení jednotlivých velikostních kategorií folikulů štítné žlázy jehnic	74
5.3.2.3	Výška folikulárního epitelu jehnic	74

5.3.3	Koncentrace jódu ve štítné žláze a proliferační aktivita folikulárního epitelu jehnic.....	75
5.3.4	Histologické vyšetření	76
5.3.5	Souhrn výsledků	77
5.4	Parametry štítné žlázy skotu	78
5.4.1	Hmotnost a relativní hmotnost štítné žlázy skotu.....	78
5.4.2	Velikostní charakteristiky folikulů a epitelu štítné žlázy skotu.....	79
5.4.2.1	Délka, šířka a plocha folikulů u skotu.....	79
5.4.2.2	Výška folikulárního epitelu u skotu	82
5.4.2.3	Procentuální zastoupení jednotlivých velikostních kategorií folikulů ...	83
5.4.3	Koncentrace jódu ve štítné žláze a proliferační aktivita folikulárního epitelu skotu.....	83
5.4.4	Histologické vyšetření	85
5.4.5	Souhrn výsledků	86
6	Závěr.....	87
7	Seznam obrázků.....	92
8	Seznam tabulek.....	93
9	Seznam grafů	95
10	Přílohy	96
11	Použitá literatura.....	114

Abstract

During the years 2008-2011 three long-term experiments on Šumava breed ewes, lambs and barren gimmers were performed. The animals were fed with experimental feed mixtures containing different contents of iodine (0.7 - 10 mg iodine per kg dry matter). In addition bovine thyroid glands were taken at the slaughter house for morphometric and immunohistochemic examinations and determination of iodine concentration. In groups of lambs with the higher iodine intake (1.4 mg iodine per kg dry matter) a reduction of thyroid weight and increase of long and medium follicles and lower height of thyreocytes were determined. Ewes with an iodine intake of 5 mg iodine showed higher thyroid weight, higher size parameters of follicles (length, width and area) and lower height of thyreocytes. No differences between lambs with iodine intake 3 and 5 mg were found. Between gimmers receiving 10 mg of iodine and gimmers with intake of the same iodine dosage and strumigenes no differences were found. In the cows, bulls and heifers the height of thyreocytes was decreased while in calves the thyreocytes were higher. The concentration of iodine in the thyroid in cows, bulls and calves was similar as in experiments with high iodine intake (10 mg per kg dry matter) on bulls described in literature. Our results indicate a lower activity of the thyroid gland in all groups, which correlates with the high iodine concentration of the mineral mixtures.

Key words: histometry, follicles size, epithelium high, PCNA, strumigenes

Seznam zkratek

T3	trijódtyronin
T4	tyroxin
TSH	thyroid stimulating hormone
NIS	sodium iodide symporter
ATP	adenosintrifosfát
MIT	monojódtyronin
DIT	dijódtyronin
rT3	reversní trijódtyronin
Da	Dalton
TRH	thyrotropin-releasing hormone
TSH-R	thyroid stimulating hormone receptor
THR	thyroid hormone receptor
mRNA	messenger RNA
AMP	adenosinmonofosfát
STH	somatotropin
TT3	celkový trijódtyronin
TT4	celkový tyroxin
KD	krmná dávka
TBG	tyroxin vázající globulin
TBPA	tyroxin vázající prealbumin
Tg	tyreoglobulin
TPO	tyreoidální peroxidáza
GSH-peroxidáza	glutathion peroxidáza
FSH	folikuly stimulující hormon
LH	luteinizační hormon
NRC	National Research Council

1 Úvod

Zásobení zvířat jódem na území České republiky prošlo za posledních 25 let velice dynamickým vývojem. Koncem 80. a začátkem 90. let minulého století se zejména u skotu, ale i u jiných druhů hospodářských zvířat, projevil nedostatek jódu v krmné dávce, zvláště pak ve výrazném poklesu koncentrace jódu ve vzorcích bazénového mléka a ve zvýšené incidenci strumy novorozенých mláďat snížení jejich životaschopnosti a abortů (Kroupová et al., 2000; Kursá et al., 1996). Z tohoto důvodu bylo přistoupeno k plošné suplementaci krmných dávek jódem. V letech 2000-2006 byl řadou autorů zjištěn naopak výrazný vzestup obsahu jódu v bazénových vzorcích mléka, který byl způsoben přílišným zvýšením koncentrace jódu v minerálních krmných doplňcích (Hejtmanková et al., 2006; Herzig et al., 2005; Kursá et al., 2004; Trávníček et al., 2006) V současnosti dochází k plošnému poklesu koncentrace jódu v bazénových vzorcích mléka a optimalizaci jódové výživy hospodářských zvířat. Někteří autoři však zaznamenávají u části sledovaných chovů opět pokles koncentrace jódu v mléce silně pod optimální hranici (Kroupová et al., 2013).

Vzhledem k tomu, že je kravské mléko a mléčné výrobky nejdůležitějším dietárním zdrojem jódu v lidské výživě (Řehůřková et Ruprich, 2013), může vysoká koncentrace jódu v mléce přinášet pro některé disponované konzumenty zvýšená rizika vzniku některých onemocnění, jako jsou autoimunitní choroby štítné žlázy (Hashimotova a Graves-Basedowova choroba) či některých nádorových onemocnění (papilárního karcinomu) štítné žlázy (Burgi, 2010; Dal Maso et al., 2009; Guan et al., 2005; Guan et al., 2009; Knobel et Medeiros-Neto, 2007; Ma et al., 1982; Teng et al., 2006; Zamrazil et al., 2007). I z tohoto důvodu je důležité sledovat a optimalizovat koncentrace jódu v krmných dávkách hospodářských zvířat.

Vysoký příjem jódu v krmné dávce vyvolává i u zvířat dopady na funkci a strukturu štítné žlázy. Vysoká hladina jodidu v krevní plazmě negativně ovlivňuje organifikaci jódu (tvorby hormonů štítné žlázy) a snižuje účinnost proteolýzy koloidu a tím uvolňování hormonů do krve. Nízká hladina hormonů štítné žlázy stimuluje adenohipofýzu k produkci TSH. Důsledkem je hromadění koloidu uvnitř folikulů, v některých případech zvětšení celé štítné žlázy či ke snížení výšky tyreocytů (La Perle et Capen, 2007; Many et al., 1986; Trávníček et al., 1999; Wolman et al., 1990)

2 Literární přehled

2.1 Makroskopická stavba štítné žlázy

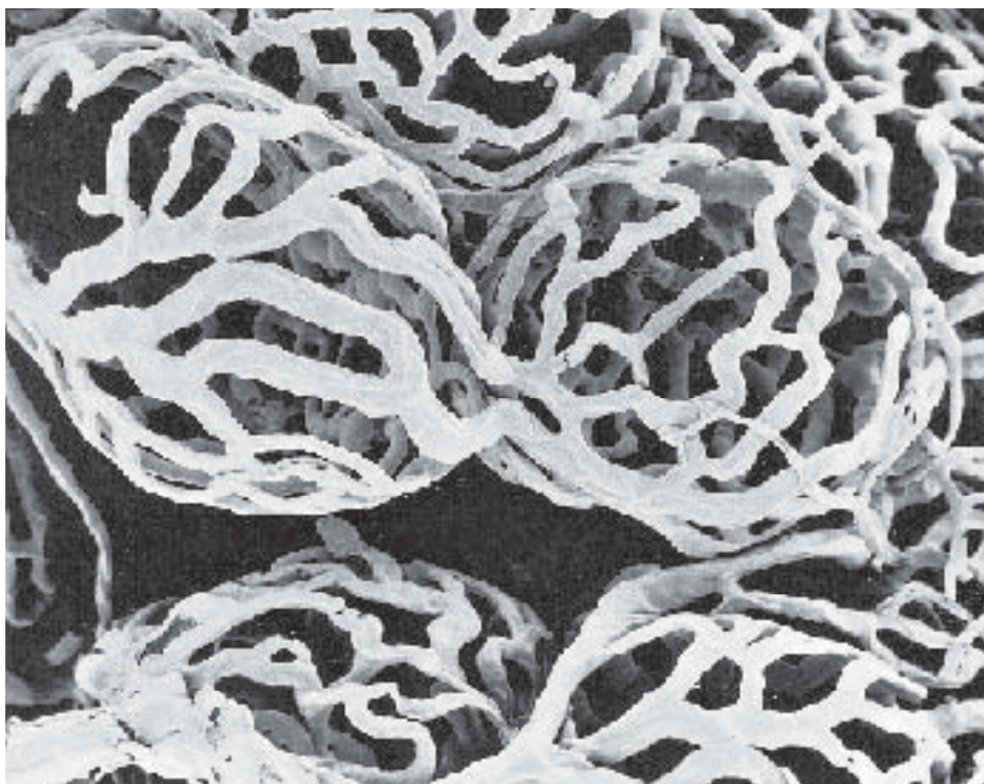
Štítná žláza (*glandula thyroidea*) je přítomna u všech obratlovců, počínaje rybami až po savce. U většiny savců je štítná žláza párová a je umístěna na průdušnici kaudálně za hrtanem přibližně mezi 2. a 8. tracheálním prstencem. U skotu a ovcí je složena ze dvou laloků, spojených můstkem (*istmus glandularis*), u psa a kočky istmus chybí. Prasata mají štítnou žlázu kompaktního tvaru umístěnou na průdušnici ventrolaterálně s velkým mediálním lalokem (místo můstku) a přilehlými laterálními laloky. Její přední okraj obvykle zasahuje až ke štítné chrupavce, kaudální lalok zasahuje až ke vchodu do hrudní dutiny, povrch orgánu je výrazně hrbolatý a laločnatý. U koní dosahuje štítná žláza velikosti vlašského ořechu či švestky, nachází se na úrovni druhého a třetího tracheálního prstence a je nápadná svou tuhou konzistencí a červenohnědou barvou, istmus je redukován na vazivový pruh (Frandsen et al., 2009; König et Liebich, 2002; Reece, 2011; Sova, 1971).

2.2 Krevní zásobení štítné žlázy

Štítná žláza patří k nejkrveňším orgánům v těle savců. Kapilární síť ve štítné žláze je vedle kapilární sítě plicních sklípků a cévnatky oka nejbohatší v těle. Veškerá krev projde sítí vlásečnic štítné žlázy asi za jednu hodinu (Novotný, 1966). Jelínek² (2003) uvádí, že vydatněji krvenou žlázou těla jsou jen nadledvinky.

Krev je do štítné žlázy přiváděna zejména větvemi *a. thyroidea cranialis* a slabší *a. thyroidea caudalis*, které odstupují z *a. carotis comunis*. Z *a. thyroidea cranialis* vycházejí také větve, které zásobují hrtan. U skotu a ovcí často není přítomna *a. thyroidea caudalis*. Tepny se ve vazivu pouzdra větví, jejich větve probíhají ve vazivových septech a dále se dělí na vlásečnice, které obepínají folikuly (obrázek 1). Odvod krve je uskutečňován *v. thyroidea cranialis*, která vstupuje do *v. jugularis interna* (Dyce et al., 1991; König et Liebich, 2002; Novotný, 1966).

Obrázek 1 - Kapilární síť folikulů štítné žlázy



Korozivní preparační technika¹, štítná žláza kočky, elektronový mikroskop, zv. 250 x (Bacha et Bacha, 2000)

2.3 Lymfatický systém štítné žlázy

Mízní cévy štítné žlázy, které obsahují řadu chlopní, probíhají k hlubokým mízním uzlinám (*lymphonodi cervicales profundi*) nebo přímo do *truncus trachealis* (König et Liebich, 2002). *Truncus trachealis* vzniká spojením *lnn. retropharyngeal laterales* a probíhá v jednom nebo dvou kmenech mezi průdušnicí a jícnem a cestou se na něj napojují odvodné míznice z hlubokých krčních uzlin (*lnn. cervicales profundi craniales et medii*). *Truncus trachealis sinister* ustí do *ductus thoracicus* nebo těsně vedle něj do *v. jugularis externa sinistra*. *Truncus trachealis dexter* přechází kaudálně svou rozšířenou částí (*ductus lymphaticus dexter*) a poté se připojuje do *v. jugularis externa dextra*. Do *ductus lymphaticus dexter* vyústí i míznice pravostranných mízních uzlin, na levé straně ústí tyto míznice do *ductus thoracicus* (Najbrt et al., 1982).

¹ Při úpravě vzorku byla kapilární síť vyplněna syntetickou pryskyřicí. Tato technika neumožňuje vyplnění nejmenších vlásečnic, proto jsou na snímku znázorněny jen vlásečnice s větším průměrem. Kapilární síť folikulů je ve skutečnosti mnohem hustější.

2.4 Inervace štítné žlázy

Inervace štítné žlázy je vegetativní. Sympatická vlákna pochází z *ggl. cervicale craniale*, parasympatická z *n. laryngeus cranialis* a *n. laryngeus caudalis seu recurrens*, které jsou větví *n. vagus (X)* (König et Liebich, 2002). Nervová vlákna postupují společně s krevními cévami a tvoří pleteně v jejich adventicii (McDonald, 1975). Junqueira et al. (1997) uvádí, že se poblíž bazální membrány nachází adrenergní vlákna, a že adrenergní aminy mohou ovlivňovat metabolismus jódu, z čehož vyplývá, že funkce epiteliálních buněk může být částečně řízena přímo nervově.

2.5 Mikroskopická stavba

Laloky štítné žlázy jsou pokryty pouzdrem vazivové tkáně, která vybíhá do vnitřku laloku ve formě trámčů, které jsou spojeny s řídkým intralobulárním vazivem tvořícím množství nepravidelných lalůčků. Ve štítné žláze skotu a prasat se nachází větší množství vazivové tkáně než u ostatních hospodářských zvířat. Lalůčky jsou tvořeny množstvím různě velikých folikulů vyplněných koloidem. Velikost folikulů se nejčastěji pohybuje v rozmezí 20-250 μm . Stěna folikulu je tvořena jednovrstevným žlázovým epitelem (obrázek 2), jehož výška (res. výška folikulárních buněk – tyreocytů) je závislá na funkčním stavu folikulu. Při nižší aktivitě je epitel plochý až nízce kubický, při vyšší aktivitě je kubický až cylindrický. U neaktivních folikulů se při okraji nenachází resorpční vakuoly, aktivní folikuly jsou charakterizovány přítomností vysokých folikulárních buněk a vakuolizací koloidu (Bacha et Bacha, 2000; Capen, 2001; Frandson et al., 2009; Kuehnel, 2003; La Perle et Capen, 2007).

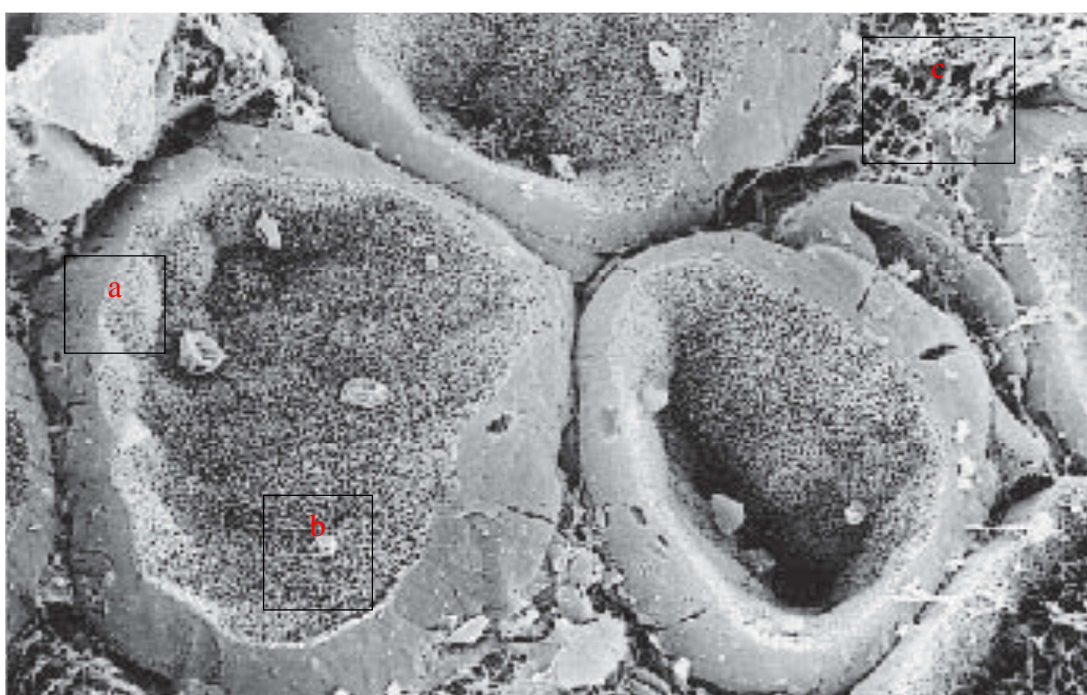
Koloid je hustá gelovitá substance, jejíž konzistence je závislá na aktivitě štítné žlázy. V období syntézy koloidu, kdy je uskladňován v lumenu folikulu, je velmi hustý, při resorpci se stává řidším. Na histologických preparátech se řidší koloid barví více eosinofilně (Sládek, 2000).

C-buňky (parafolikulární buňky) jsou většinou objemnější buňky vejcovitého tvaru nacházející se v intersticiu štítné žlázy individuálně, či v malých skupinkách. Jejich apikální část nezasahuje k lumenu folikulu. (Bacha et Bacha, 2000; Samuelson, 2007). Parafolikulární buňky se od tyreocytů odlišují přítomností velkého množství hladkého

endoplazmatického retikula a velkým množstvím silně elektronových denzních granul o velikosti okolo 0,15 μm (Horký et Tichý, 2004).

Na rozhraní luminální strany folikulárních buněk a koloidu se nachází množství mikrokloků, které zvětšují aktivní povrch tyreocytu (obrázek 2). V tyreocytu se nachází vyvinuté hrubé endoplazmatické retikulum a Golgiho aparát, v jehož cytoplazmě dochází k syntéze podstatného množství thyreoglobulinu (Capen, 2006; Kuehnel, 2003).

Obrázek 2 - Utváření folikulů



Polygonální epiteliální buňky (a), mikroklokky na luminální ploše tyreocytů (b), vaskularizovaná pojivová tkáň (c), elektronový mikroskop zv. 1800 x (Bacha et Bacha, 2000)

2.5.1 Struma

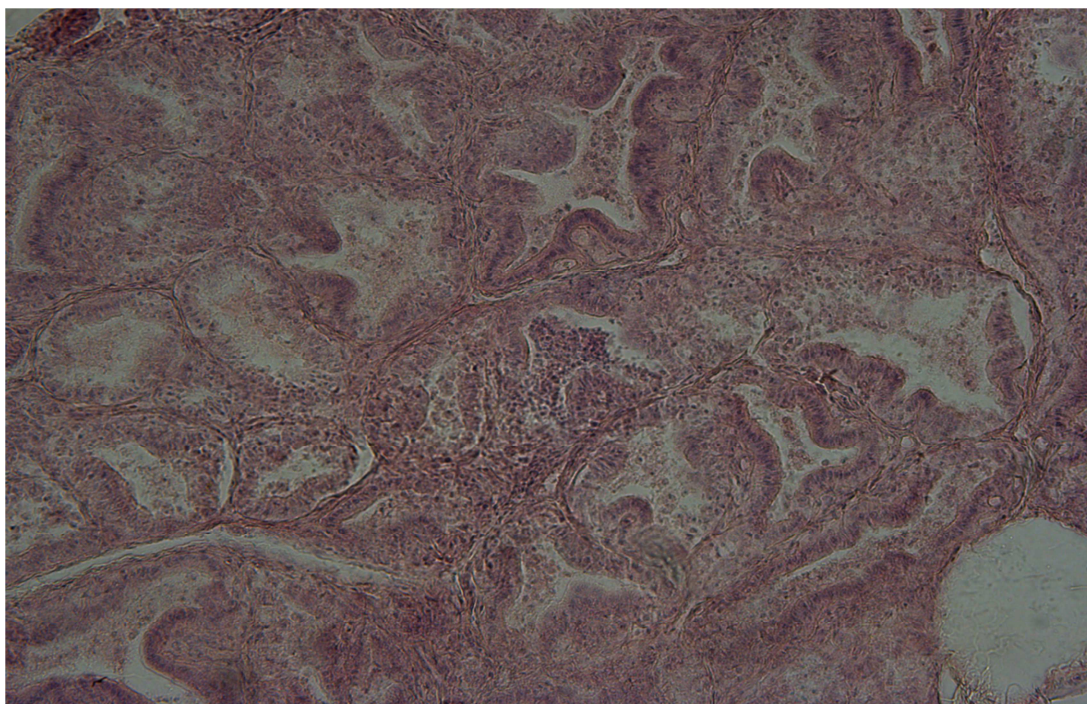
Termínem struma (vole) se rozumí každé nezápálivé a nenádorové zvětšení štítné žlázy, které se vyskytuje u všech hospodářských a domácích zvířat, ptáků a dalších obratlovců. Nejčastějším mechanismem vzniku zvětšení štítné žlázy je nedostatečná jódová výživa, příjem strumigenních látek, nadbytek přijímaného jódu a geneticky podmíněné defekty enzymatického aparátu štítné žlázy (Capen, 2001). Pojmenování údajně vzniklo podle názvu řeky v Bulharsku, v jejímž povodí se často vyskytovalo nápadné zvětšení štítné žlázy u lidí (Pivník, 1972).

2.5.1.1 Parenchymatózní struma

Difusní parenchymatózní (hyperplastická) struma (*struma hyperplastika diffusa*) vzniká jako následek zmnožení a hyperplazie folikulárních buněk způsobené stimulací tyreotropinem (TSH). Nejdéle známou příčinou vzniku difusní strumy je nedostatek jódu a dále příjem strumigenních látek. Mikroskopický obraz je charakteristický narušením až zánikem folikulární struktury. Uvnitř malých folikulů se nachází minimální množství koloidu. Tvar folikulů je nepravidelný a zmnožené epiteliální buňky utváří papilární formace (obrázek 3). Epitel je cylindrický až vysoce cylindrický, často se vyskytují solidní buněčné shluky a pruhy. Štítná žláza bývá hmatná nebo viditelná ve ventrokaudální části krku. Makroskopicky jsou postižené laloky uniformě zvětšeny, na pohled tuhé a tmavě červené v důsledku bohaté kapilární sítě (Capen, 2001).

Jestliže je zvýšený výskyt strumy vázán na určité území (nejčastěji horské či vnitrozemské oblasti s nedostatkem jódu) je tato struma označována jako endemická struma (*struma endemica*). Další formou difusní strumy je kongenitální (vrozená) struma (*struma congenita*), která je nejčastěji popisována u jehňat, kozlat a telat. Kongenitální struma se vyznačuje značnou velikostí, v nejtěžších případech dochází až ke kompresy průdušnice a k dušení mláďat. (Capen, 2001; La Perle et Capen, 2007; Motlík, 1982; Pivník, 1972). Jak uvádí Capen (2001) je u některých plemen ovcí (Corriedale, Dorset Horn, Merino, Romney), skotu (Afrikander cattle) a koz (Saanen dwarf goats) dispozice k rozvoji kongenitální strumy geneticky (autosomálně recesivně) podmíněna.

Obrázek 3 – Parenchymatózní struma - štítná žláza skotu

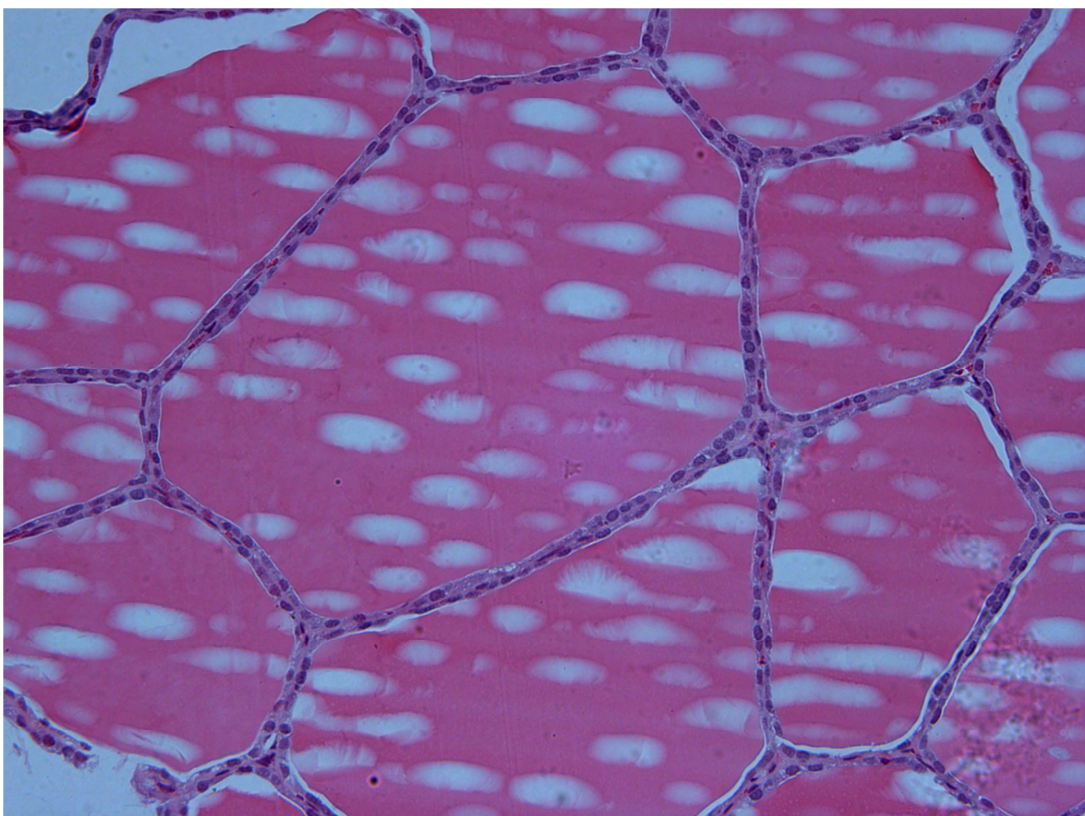


Barvení hematoxylin a eosin, zv. 200 x, (vlastní obrázek)

2.5.1.2 Koloidní struma

Koloidní struma (*struma colloidea*) vzniká často při involuci difusní hyperplastické strumy u dospívajících a dospělých zvířat. Hyperplastické folikulární buňky nadále pokračují s produkcí koloidu, ale endocytóza koloidu z lumenu folikulu je snížena. Při koloidní strumě jsou oba laloky štítné žlázy difuzně zvětšeny, mají průsvitný charakter a jsou světlé barvy v důsledku snížené vaskularizace laloků, zvýšenému obsahu koloidu ve štítné žláze a rozvoji makrofolikulární struktury. Folikuly jsou zcela vyplněny eosinofilním koloidem v důsledku snížení endocytózy (obrázek 3). Folikuly dosahují značných velikostí a jsou vystlány plochým a atrofickým epitelem. Koloid přiléhající k luminální ploše tyreocytů je hladký bez přítomnosti nebo s minimálním množstvím endocytických vakuol. Koloidní struma se může rozvinout i u zvířat s enormním příjmem jódu. Vysoké dávky jódu negativně ovlivňují jednotlivé fáze organifikace jódu a ovlivňují aktivitu tyreoidálních peroxidáz (Capen, 2001; Deborah et Stabenfeldt, 2007; La Perle et Capen, 2007; Pivník, 1972).

Obrázek 4 – Štítná žláza skotu – koloidní struma



Barvení hematoxylin a eosin, zv. 200x, (vlastní obrázek)

2.6 Embryonální vývoj štítné žlázy

Embryonální základ štítné žlázy tvoří zhuštěná epiteliální výstelka faryngové dutiny. V průběhu vývoje plodu intimně přiléhá ke *struncus arteriosus*, se kterým proniká dorzokaudálním směrem a zanořuje se do mezenchymu. Rozvětvená vlákna buněk tkáně štítné žlázy vycházejí ze základu faryngu a migrují dorzolaterálně. Proliferací buněk těchto vláken na distálním konci *ductus thyreoglossus* se formují do podoby folikulů, které tvoří nepárový základ štítné žlázy, který se nachází v oblasti báze jazyka a směřuje ventrokaudálně. Do té doby jednotný čep tkáně se v určité vzdálenosti začne rozdělovat na pravou a levou část (budoucí pravý a levý lalok). Vývoj folikulů je komplexní proces, který začíná neregulovanou proliferací vláken buněk, vzniklých z endodermy *ductus thyreoglossus* ve střední linii vyvíjejícího se pharyngu. Primitivní folikuly vznikají jako invaginace plazmatické membrány jednotlivých folikulárních buněk do formy koloid obsahujících mikrofolikulů, které se postupně zvětšují pod vlivem TSH. Štítná žláza je po

jistou dobu jsou spojena s dutinou faryngu kanálkem *ductus thyreoglossus*. Kromě nepárového základu štítné žlázy se na její stavbě podílejí i buňky 4. žaberní štěrbin (ultimobranchyální tělíška), která jsou neuroektodermálního původu a migrují do základu štítné žlázy, kde se diferencují na parafolikulární buňky (C-buňky), které jsou disseminovány mezi epiteliálními buňkami a v extrafolikulární tkáni (Capen, 2006; Halouzka et Krinke, 2000; Popesko, 1992). Vývoj štítné žlázy nižších savců probíhá několik hodin před porodem, u skotu 75. – 90. den březosti, u ovcí a koz v první třetině březosti (Píchová et Pícha, 1967). Alwan (2009) uvádí, že nejintenzivnější růst hmotnosti štítné žlázy embryí jehnat probíhá v posledním měsíci březosti a že dochází ke zvětšování průměru a ke zmnožování počtu folikulů.

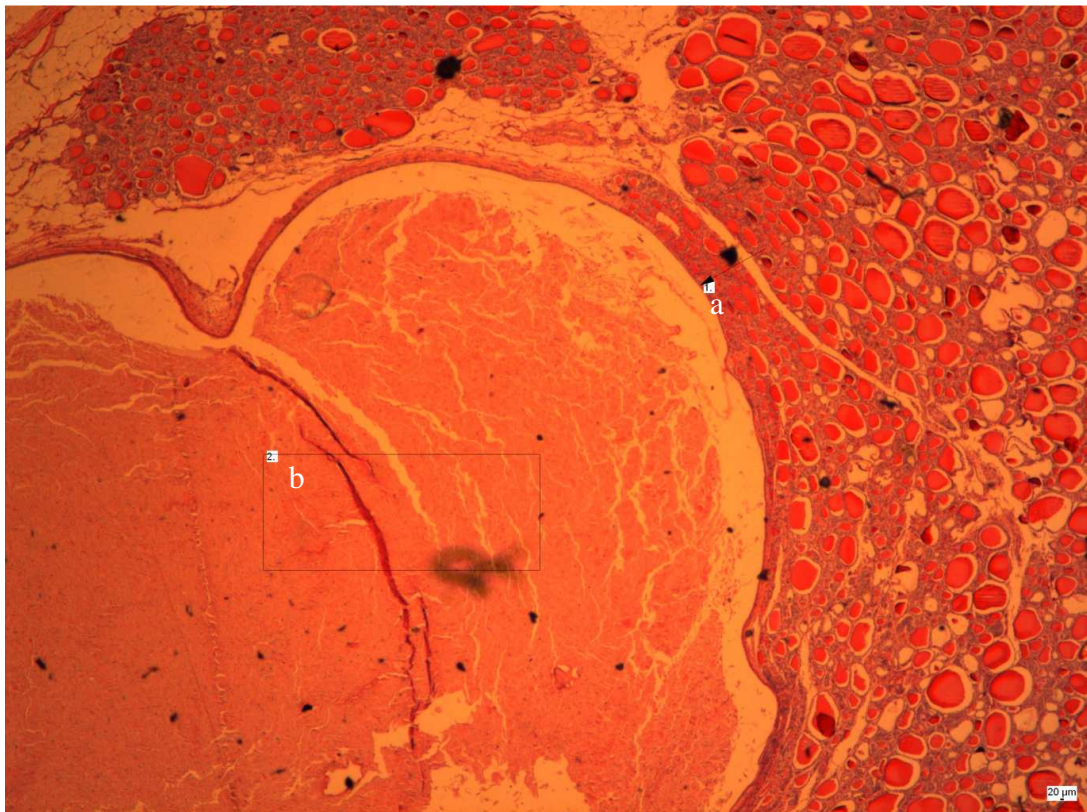
2.7 Vývojové anomálie štítné žlázy

Ze zbytku *ductus thyreoglossus* se mohou vyvinout u všech druhů hospodářských zvířat akcesorní (přídavné) štítné žlázy (*glandulae thyreidae accessoriae*), které strukturálně odpovídají štítné žláze a nacházejí se zejména v oblasti hrtanu a kořene jazyka. Asi u 50 % dospělých psů se akcesorní štítné žlázy nachází lokalizované v tukové tkáni báze krku či na bázi aorty. Tyreoglosární duktální cysty se nejčastěji vyskytují u psů a prasat, ale jsou nacházeny i u dalších druhů zvířat (obrázek 5). Vznikají jako část zbytku středního pruhu zárodka štítné žlázy, který migruje kaudálně z ventrální části zárodečného pharyngu a následně se formuje do podoby laloků. Výstelku těchto cyst tvoří vícevrstevný epitel, někdy jsou přítomny koloid obsahující folikuly. Tyto epiteliální buňky mohou podstoupit neoplastickou transformaci a stát se základem papilárního karcinomu štítné žlázy (La Perle et Capen, 2007). Během embryonálního vývoje může dojít k začlenění různých tkání do vlastní tkáně štítné žlázy, které tvoří ve většině případů solidní shluky. Nejčastěji pozorovanými heterotopickými tkáněmi ve štítné žláze jsou tkáně paratyroidey, brzlíku, kosterní svaloviny, slinných žláz či chrupavčité tkáně (obrázek 6) (Biddinger, 2012)

Četnost výskytu vývojových anomálií štítné žlázy ovcí je podle literárních zdrojů velice variabilní. Například Nouri et al. (2010) sledoval frekvenci výskytu vývojových anomálií štítné žlázy ovcí a jejich plodů v pouštních oblastech Íránu a uvádí, že u 45 % ovcí a jejich plodů se vyskytovaly různé cysty. Naproti tomu Saiyari et al. (1995), který sledoval výskyt

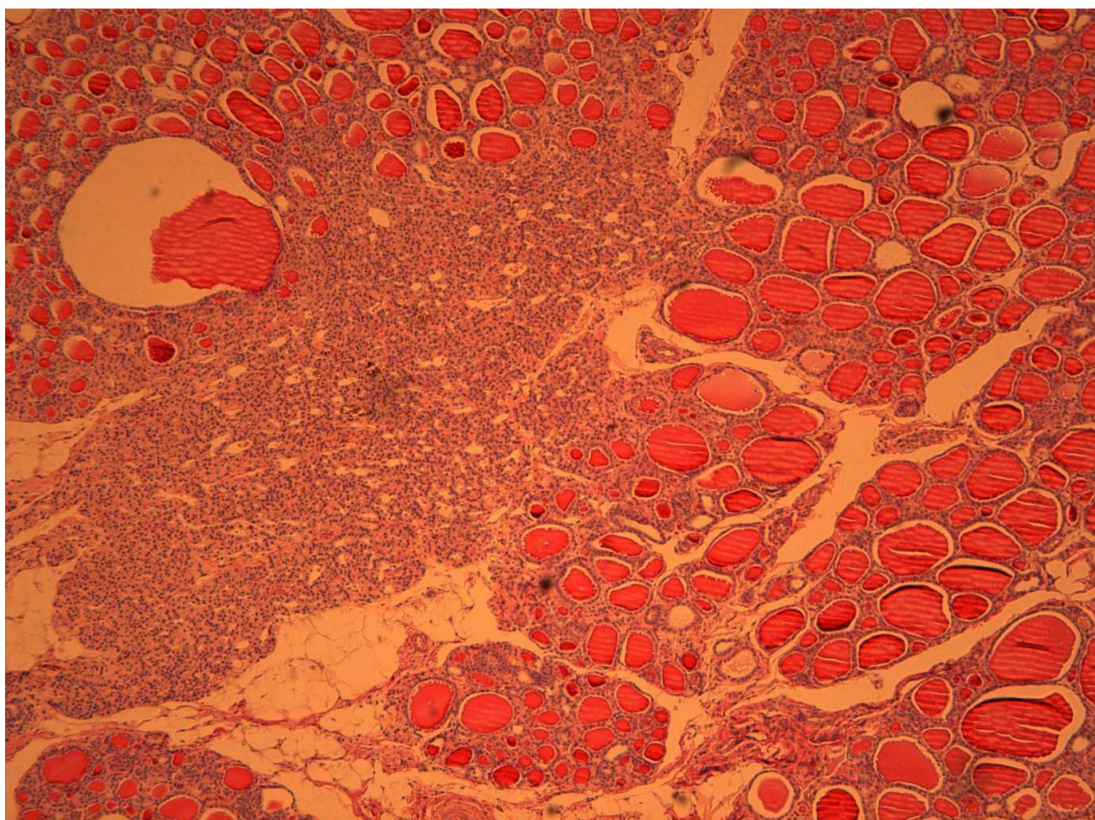
patologických lézí u ovcí a koz na stejném území uvádí, že u ovcí se různé léze štítné žlázy vyskytují u 2,8 % ovcí a 6,54 % koz.

Obrázek 5 - Ultimobrachiální cysta - štítná žláza ovce



Ultimobrachiální cysta vystlaná dlaždicovým nerohovějícím epitelem (a) s početnými deskvamovanými epitelii (b) v lumenu cysty- HE, obj. 5x (autor obrázku: prof. Jelínek)

Obrázek 6 - Heterotopická parathyroidea - štítná žláza ovce



Při pólu laloku susp. parathyroidea. - HE, obj. 10x (autor obrázku: prof. Jelínek)

2.7.1 Štítná žláza ovčí

Štítnou žlázu ovčí tvoří větvenovitě až válcovité laloky dorzolaterálně umístěné od hrtanu na úrovni prvních tracheálních prstenců (obrázek 7), istmus je redukován na vazivový pruh, který často chybí (obrázek 8) (König et Liebich, 2002). Bhardwaji et al. (2006) uvádí, že délka laloku štítné žlázy se pohybuje mezi 2,7-4,5 cm, šířka mezi 1,0 – 1,7 cm a tloušťka laloku mezi 0,4 – 0,7 cm. Hmotnost celého orgánu dosahuje podle autora 1,72 – 4,09 g. Kratochvíl (1998) uvádí, že hmotnost štítné žlázy dospělých zvířat dosahuje 3,4-12,1 g v závislosti na tělesné hmotnosti. Průměrná velikost folikulů se podle autora pohybuje u zvířat s normální histologickou stavbou mezi 103,4 μm a 232,4 μm a výška tyrocytů mezi 8,48 μm a 8,97 μm . Krabačová (2002) uvádí, že hmotnost štítné žlázy dospělých zvířat dosahuje 3,4-12,1 g v závislosti na tělesné hmotnosti. Průměrná velikost folikulů se podle autora pohybuje u zvířat s normální histologickou stavbou mezi 103,4 μm a 232,4 μm a výška tyrocytů mezi 8,48 μm a 8,97 μm .

Obrázek 7 - Topografie štítné žlázy ovce



Štítná žláza ovce, věk 6 let, hmotnost při porážce 85 kg, pravý lalok (a), istmus (b), jícen (c), průdušnice (d), hrtan (e), *a. carotis comunnis* (f), *a. thyroidea cranialis* (g), *a. thyroidea caudalis* (h), (vlastní obrázek)

Obrázek 8 - Štítná žláza ovce



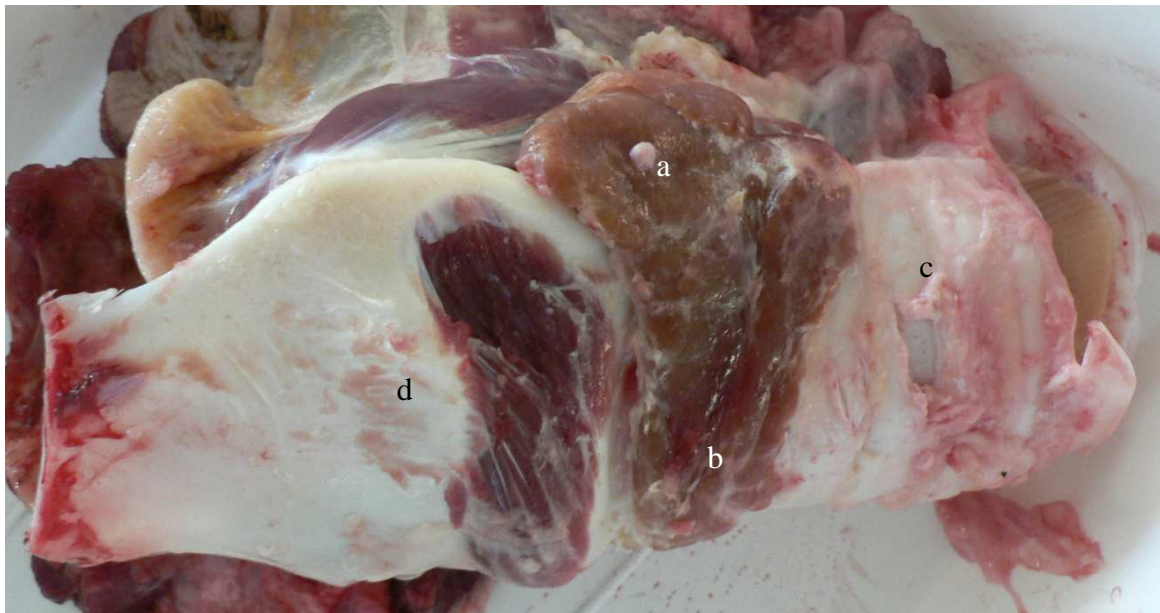
Štítná žláza ovce, hmotnost celého orgánu 6,51 g, pravý lalok (a), levý lalok (b), istmus (c), (vlastní obrázek)

2.7.2 Štítná žláza skotu

Štítná žláza skotu se skládá ze dvou laloků přibližně trojúhelníkovitého tvaru, které přiléhají laterálně na prvních prstencích průdušnice (obrázek 9), přičemž se nacházejí dorzálněji a doléhají k *m. cricopharyngeus* a *m. cricothyroideus*. Přibližně na druhém tracheálním prstenci jsou laloky ventrálně spojeny asi centimetr širokým žlaznatým můstkem (*istmus glandularis*) (obrázek 10). Hmotnost štítné žlázy dospělého skotu se pohybuje mezi 20 až 35 gramy (König et Liebich, 2002; Marvan et al., 1992). Jak uvádí Čada (1998) nebo Kratochvíl (1998) dosahuje hmotnost štítné žlázy dospělého skotu 15-65 g a hmotnost štítné žlázy telat a mladého skotu 12-34 gramů.

Podle Krabačové (2002) se velikost folikulů krav s normální strukturou se pohybuje mezi 130 až 150 μm a výška epiteliálních buněk je asi 7-11 μm , Kratochvíl (1998) uvádí u zvířat s histologickým obrazem odpovídajícím strumě velikost folikulů mezi 111-120 μm a výšku tyreocytů mezi 14-22 μm .

Obrázek 9 - Topografie štítné žlázy skotu



Štítná žláza krávy, věk 6 let, hmotnost při porážce 630 kg, levý lalok (a), istmus (b), průdušnice (c), štítná chrupavka (d), (vlastní obrázek)

Obrázek 10 - Štítná žláza skotu



Štítná žláza krávy, hmotnost orgánu 56,3 g, pravý lalok (a), levý lalok (b), istmus (c), (vlastní obrázek)

2.8 Funkce štítné žlázy

Základní funkcí štítné žlázy je tvorba, deponace a uvolňování biologicky účinných hormonů tyroxin (T_4), trijódtyroninu (T_3) a kalcitoninu (Greenspan, 2003). Tyto hormony se uplatňují při zajištění látkové přeměny, termoregulace a biochemických procesů ve všech orgánech a tím determinují produkční potenciál hospodářských zvířat (Sokkar et al., 2000).

2.8.1 Hormony štítné žlázy

Hormony štítné žlázy patří do skupiny aminových hormonů. Jsou odvozeny od aminokyseliny tyrozinu a další složkou hormonů je jód. Při syntéze tyroxinu (3,5,3',5' - tetrajódtyroninu) trijódtyroninu (3,5,3' - trijódtyroninu) dochází k uvolnění molekuly vody, aminokyselinových zbytků a glycinu (Reece, 2011).

2.8.1.1 Biosyntéza hormonů štítné žlázy

Esenciální substrát pro tvorbu tyroidních hormonů je jódový ion (I^-), který je vychytáván přes bazolaterální membránu folikulárních buněk z krevní plazmy proti koncentračnímu gradientu do lumenu tyreocytů a oxidován systémem peroxidáz na membráně mikrokloků na elementární jód (I_2) (Capen, 2006).

Vychytávání jodidu

Vychytávání jodidu z plazmy (trapping, jodidová pumpa) je aktivní proces uskutečněný pomocí speciální membránové bílkoviny (natrium-iodide symporter – NIS) za spotřeby ATP. Tento mechanismus dovoluje udržovat jeho koncentraci ve štítné žláze 30-40 násobně větší než je v krevní plazmě. Jodidová pumpa je stimulována tyreotropinem (TSH) a dalšími stimulačními látkami proti TSH receptoru. Stejně jako jodidový aniont může jodidová pumpa přenášet i další anorganické ionty, které se podobají velikostí a nábojem, jako jsou např. ClO_4^- , SCN^- , NO_3^- či TcO_4^- , které funkci štítné žlázy inhibují. Dalšími tkáněmi, ve kterých dochází ke koncentraci jódu, jsou slinné žlázy, žaludek a mléčná žláza, avšak zde neprobíhají další procesy organifikace a jód se zde ani neuskładňuje (Dodt et Fehm, 2003; Ganong, 2005; Greenspan, 2003).

Oxidace jodidu, organifikace jódu a tvorba hormonů štítné žlázy

Jodid je v apikální membráně tyreocytů oxidován za účasti tyreoidální peroxidázy a peroxidu vodíku (H_2O_2)² (De Deken et al., 2002; Greenspan, 2003). Jodidový aniont je aktivně přenášen specifickým transportérem (pendrin), který přenáší jodid výměnou za chlorid (Banghová et al., 2006; Bogazzi et al., 2000).

Další fází tvorby hormonů štítné žlázy je jodace tyrozinových zbytků v molekule tyreoglobulinu³-Tg. Jódované tyrozinové zbytky jsou spojovány v apikální membráně

² Peroxid vodíku vzniká v tyreocytech za přítomnosti specifických oxidáz (THOX 1, THOX 2) (De Deken et al., 2002).

³ Tyreoglobulin (Tg) je glykoprotein, jehož molekula se skládá z přibližně 120 molekul tyrozinu a 10 % sacharidů (manóza, fruktóza, galaktóza, kyselina sialová, chondroitinsulfát, N-acetylglukosamin), které jsou získávány z krevního oběhu. Asi 25-30 molekul tyrozinu je k dispozici pro tvorbu jód tyrozinů. Obsah jódu v Tg se pohybuje mezi 0,1-1 %. Tyreoglobulin je syntetizován v po sobě jdoucích podjednotkách na ribozomech a hrubém endoplazmatickém retikulu epiteliální buňky, jeho molekulová hmotnost se pohybuje

tyreocytu uvnitř molekuly tyreoglobulinu za přítomnosti (katalyzací) tyreoidální peroxidázy⁴ (TPO). Produktem jsou monojódtyrozin (MIT) a dijódtyrozin (DIT), jejichž následnou oxidativní kondenzací (za přítomnosti řady peroxidáz, které poskytují kyslík) vznikají vlastní hormony štítné žlázy. Spojením dvou molekul DIT vzniká molekula tyroxinu (T₄) za současného odštěpení alaninového řetězce. Spojením DIT a MIT vzniká trijódtyronin T₃ a malé množství reverzního T₃ (rT₃) (Límanová et al., 2006).

Sekrece hormonů štítné žlázy

Prvním krokem sekrece je proteolýza koloidu. Apikální membrána tyreocyty se začíná vyklenovat a endocytózou začíná vtahovat kapičky koloidu (fagozomy) do lumenu tyreocyty. K fagozómům se připojují lysozomy a vznikají tak tzv. fagolysozomy, ve kterých probíhá vlastní hydrolýza tyreoglobulinu pomocí proteáz, endopeptidáz, fosfatáz, glukozidhydroláz atd. a uvolňování T₃, T₄, MIT a DIT, peptidových zbytků a aminokyselin. Celý proces hydrolýzy tyreoglobulinu je stimulován TSH (Langer, 1998).

Vlastní hormony štítné žlázy (T₃ a T₄) přecházejí do krve. Mechanismus přechodu není dosud přesně objasněn, předpokládá se, že se ho účastní specifický bílkovinný nosič. Proces dejodace⁵ hormonů štítné žlázy zahrnuje několik kroků, během kterých dochází postupně ke vzniku DIT, MIT. Při dejodaci MIT a DIT (jodtyrozindehalogenázou) dochází ke vzniku tyrozinu a jodidového ionu (I⁻). (Awadeh et al., 1998; Ganong, 2005; Greenspan, 2003; Límanová et al., 2006).

Uvolněný jód a dejodované molekuly tyreoglobulinu se dále využívají pro syntézu hormonů. Ganong (2005) uvádí, že uvolněný jód poskytuje asi dvojnásobek jódu, v porovnání s množstvím, které je vychytáváno z krevní plazmy aktivním transportem (trapping jódu). Při jódovém deficitu se může ve štítné žláze uplatnit zvýšená aktivita 5' -

od 600000 do 750000 Da. Syntetizovaný tyreoglobulin je v Golgiho aparátu „zabaleno“ do vesikulí, které jsou vytlačeny do lumenu folikulu (Greenspan, 2003; LaPerle et Capen, 2007; Límanová et al., 1995).

⁴ Tyreoidální peroxidáza (TPO) je na membránu vázaný glykoprotein, TPO je syntetizována na hrubém endoplazmatickém retikulu a její molekulová hmotnost se asi 102 000 Da. Po syntéze je přenesen exocytickými granulami na apikální membránu tyreocyty. Tvorba TPO je ovlivňována TSH (Greenspan, 2003).

⁵ V současnosti jsou známi tři typy dejodáz. Dejodáza typ I (5'-DI) se nachází zejména v játrech a ledvinách, odštěpuje jód v poloze 5' a díky ní z T₄ vzniká T₃. Ve své molekule obsahuje selenocystein. Dejodáza typu II (5'-DII) byla zjištěna v CNS, hypofýze, placentě a hnědém tuku. dejoduje jód v poloze 5' a její aktivita výrazně stoupá při hypothyreozě. Díky dejodáze typu III (5-DI) vzniká z T₄ rT₃ a následně dejoduje rT₃ na 3,3'-dijódtyronin (Langer, 1998; Ganong, 2002; Greenspan, 2003)

dejodáza, jejímž účinkem dochází k dejodaci T_4 , který je dnes spíše považován za prohormon, přímo ve štítné žláze a tím ke zvýšení produkce metabolicky aktivního T_3 (Greenspan, 2003). Uvádí se, že většina T_3 v těle (asi 87 %) vzniká dejodací T_4 v periferních tkáních a jen minoritní část (asi 13 %) je uvolňováno štítnou žlázou. Stejně tak vzniká dejodací T_4 asi 95 % rT_3 . Nejvýznamnější část T_4 prochází dejodací v játrech a ledvinách. Dejodace však probíhá i v ostatních orgánech (Ganong, 2005).

Transport hormonů štítné žlázy v krvi

Hormony štítné žlázy jsou v krevní plazmě transportovány ze 75 % navázané na plazmatické bílkoviny (globulin vázající tyroxin - TBG, transthyretin – prealbumin vázající tyroxin (TBPA), albumin)⁶. Globulin je syntetizován v játrech a v každé molekule TBG se nachází jedno vazebné místo pro T_3 nebo T_4 a přenáší asi 70 % hormonů v oběhu. Transthyretin je důležitým přenašečem tyreoidálních hormonů zejména v prenatálním období, kdy ještě není funkční embryonální štítná žláza. TBPA přenáší zejména T_4 , schopnost přenášet T_3 je asi 10x menší v porovnání s T_4 . Molekula albuminu obsahuje několik vazebných míst pro T_3 i T_4 . Jedno vazebné místo silné a několik volných vazebných míst, která dovolují snadnou disociaci T_3 a T_4 . Díky tomu je albumin hlavním zdrojem volných hormonů (Ganong, 2005; Greenspan, 2003; Langer, 1998). Fyziologicky aktivní jsou jen volné formy hormonů a ty inhibují hypofyzární sekreci TSH. Volné formy štítné žlázy jsou v rovnováze s navázanými hormony v krevní plazmě a tkáních. Hormony v krevní plazmě neustále přecházejí z volného do vázaného stavu a naopak. Rychlost této fluktuace je ovlivněna místní teplotou, pH či např. koncentrací mastných kyselin. V normálním případě se na bílkoviny váže 99,96 % T_4 a 99,60 % T_3 . Vázané formy hormonů slouží jako určitá zásoba a uvolňují se z bílkovinné vazby v závislosti na spotřebě volných forem hormonů štítné žlázy (Bíreš et al., 1996; Ganong, 2005; Greenspan, 2003; Körber et al., 1995; Langer, 1998).

⁶ Největší vazebnou kapacitu na tyroxin i trijódtyronin má albumin, naopak TBPA má tuto kapacitu nejmenší. Za fyziologických podmínek je většina cirkulujícího T_4 vázána na TBG. Poločas rozpadu transthyretinu jsou 2 dny, TBG 5 dní a albuminu 13 dní. Nižší vazebná schopnost T_3 souvisí s jeho vyšší účinností a s kratším poločasem rozpadu T_3 v porovnání s T_4 . Poločas rozpadu T_4 v krevní plazmě je 6-7 dní, T_3 1 den a rT_3 4,75 hodiny (Ganong, 2005).

2.8.1.2 Význam selenu na metabolismus jódu ve štítné žláze

Stejně jako u jódu, tak i u selenu se Česká republika nachází v oblasti deficitní na selen (Kursa et Kroupová, 1975; Kursá et al., 2010). Nedostatečný příjem selenu potencuje dopad deficitu jódu a je významným faktorem pro rozvoj mnoha chorob štítné žlázy (Guyot et al., 2011; Kohrle et Gartner, 2009). Význam selenu pro metabolismus štítné žlázy spočívá v tom, že selen je obsažen v tyroidálních dejodázách (typ I, typ II, typ III) v jejich aktivním jádru ve formě selenocysteinu. Selenocystein je unikátní bílkovina, v jejíž molekule je síra nahrazena selenem. Při deficitu selenu dochází ke zhoršení přeměny T_4 na T_3 (Bianco et al., 2002). Dalším selenoproteinem významným pro funkci štítné žlázy je glutathion peroxidáza (GSh-peroxidáza), která tvoří významný antioxidační systém proti působení H_2O_2 , který se ve štítné žláze využívá jako zdroj volných radikálů na jodaci tyrozylových zbytků tyreoglobulinu nebo oxidaci jodidu na jód (Kvíčala, 2003). Selen je významný i pro správu funkcí dalších orgánů (nadledvinky, varlata, vaječníky), kde je součástí řady enzymů, které umožňují správnou funkci tkání a imunitního systému (Kohrle et Gartner, 2009; Kohrle et al., 2005). Doporučená dávka pro ovce i skot je podle NRC (2001) a NRC (2007) 0,3 mg selenu na kg sušiny krmné dávky.

2.8.2 Řízení funkce štítné žlázy

Funkce štítné žlázy je řízena řadou mechanismů. Hlavním regulátorem je hypotalamo-hypofyzární systém, dále je funkce štítné žlázy ovlivňována příjmem jódu, hladinou hormonů v krevní plazmě či růstovými faktory⁷ (Blahoš et al., 2006). Capuco et al. (2001) uvádí, že aplikace somatotropinu kravám výrazně snížila hladinu T_3 a T_4 v krevní plazmě. Funkci štítné žlázy skotu ovlivňuje i teplota okolí a energetická bilance krmné dávky (McGuire et al., 1991; Tiirats, 1997). Dalším faktorem ovlivňujícím funkci štítné žlázy je užitkovost zvířat. Coelho et al. (2008) u ovcí pozoroval pokles koncentrace hormonů štítné žlázy na začátku laktace. Autor dále uvádí, že podáváním hormonů štítné žlázy je možné stimulovat produkci mléka.

⁷ Za nejvýznamnější růstový faktor ovlivňující funkci štítné žlázy se dnes považuje EGF (epidermální růstový faktor) (Blahoš et al., 2006).

Činnost hypotalamo-hypofyzárního systému začíná v hypotalamu produkcí TRH (thyreotropin-releasing hormone)⁸. TRH přechází hypofyzárním portálně venózním systémem do adenohipofýzy, kde stimuluje buňky k syntéze TSH (thyroid stimulating hormone) (Límanová et al., 2006; Šterzl, 2006). TSH⁹ ovlivňuje všechny fáze metabolismu jódu od stimulace jodidové pumpy, jodizaci tyreoglobulinu až po zvýšenou syntézu tyreoidálních hormonů. (Ganong, 2005; Límanová et al., 2006). TSH se specificky váže na TSH receptory (TSH-R)¹⁰ na membráně tyreocytu. Důsledkem navázání TSH na TSH-R je aktivace G-proteinů, které jsou připojené k TSH-R. Následuje složitý sled reakcí, které jsou katalyzovány řadou enzymů (adenylát cykláza, fosfolipáza C, proteinkináza A, proteinkináza C). Výsledkem je zvýšení hladiny intracelulárního Ca²⁺ a aktivace proteinkináz A a C. Tyto látky aktivují další signální mechanismy a dochází ke zvýšení funkční aktivity tyreocytů (Nussey et Whitehead, 2001). Sekreci a syntézu TSH řídí dva mechanismy a to mechanismus zpětné vazby a stimulačním působením TRH, který řídí glykosylaci, aktivizaci a uvolnění TSH z hypofýzy (Límanová, 2002). Mechanismus negativní zpětné vazby řízení sekrece TSH se uplatňuje zejména v hypofýze, kde zvýšená hladina T₃ a T₄ způsobuje blokaci sekrece TSH (i přes stimulaci adenohipofýzy TRH). Z menší části se zpětná vazba uplatňuje již na úrovni hypotalamu (Ganong, 2005).

Aktivitu štítné žlázy ovlivňují i další faktory. Todini (2007) či Novoselec et al. (2009) uvádí, že aktivita štítné žlázy u ovcí závisí na věku, fázi pohlavního cyklu, laktaci či březosti. Autoři uvádí, že u bahnic na počátku březosti stoupá produkce hormonů štítné žlázy, které prostupují placentou. Na konci březosti aktivita štítné žlázy matky klesá a naopak stoupá aktivita fetální štítné žlázy. Jak uvádí Kmiec et al. (1998) funkci i strukturu štítné žlázy ovlivňuje i výživný stav zvířat. Autor v dlouhodobém experimentu na potkanech sledoval snížení funkce štítné žlázy a snižování výšky folikulárních buněk u starých a překrmovaných zvířat. Aktivitu štítné žlázy ovlivňuje podle Kahl et al. (2000) i zdravotní stav. Autor uvádí, že během zánětlivých onemocnění (endometritidy, mastitidy) provázených tvorbou cytokinů dochází k inhibici produkce TSH v hypofýze a následnému snížení přeměny T₄ na T₃.

⁸ TRH je tripeptid (pyroglutamyl-histidin-prolinamid), který je syntetizovaný neurony supraoptického a paraventriculárního jádra hypotalamu (Ganong, 2005).

⁹ TSH (thyroid stimulating hormone) je glykoprotein, syntetizovaný tyreotropními buňkami adenohipofýzy. Je tvořen z 211 aminokyselinových zbytků, hexózy, hexosaminy a kyselinou sialovou. Skládá se ze dvou podjednotek α a β . Podjednotka α je společná všem hypofyzárním glykoproteinům (FSH, LH) zatímco podjednotka β je specifická pro každý jednotlivý glykoprotein a je odpovědná za specifickou vazbu a biologickou aktivitu (Ganong, 2005; Límanová et al., 2006).

¹⁰ TSH-R je glykoprotein skládající se ze 744 aminokyselin (Langer, 1998).

2.8.3 Účinky hormonů štítné žlázy na organismus

Za hlavní metabolicky aktivní hormon štítné žlázy je považován trijódtyronin (T_3), který je asi osmkrát účinnější než tyroxin. U tyroxinu dochází v periferních tkáních k dejodaci souborem dejodáz na T_3 . Metabolicky účinné jsou však i jiné metabolity tyroxinu. Hormony štítné prostupují přes buněčnou membránu do intracelulárního prostoru pasivní difúzí a pomocí specifických bílkovinných nosičů za spotřeby ATP. Následně dochází k vazbě T_3 na specifické jaderné receptory (THR – Thyroid Hormone Receptors) a poté dochází k tvorbě mRNA, která vyvolává řadu biochemických reakcí a výsledkem je produkce řady enzymů a bílkovin, které jsou nezbytné pro glykolýzu, oxidativní fosforylaci a také k produkci glykolytických enzymů a enzymů Krebsova cyklu. Účinky hormonů štítné žlázy se projevují po určité době latence. Existují však také krátkodobé účinky na chromatinové struktury mitochondrií a přenosové enzymatické systémy buněčných membrán, které nejsou dosud zcela známé (Blahoš et al., 2006; Ganong, 2005; Greenspan, 2003; Langer, 1998).

Stimulací hormonů štítné žlázy dochází k zvýšené spotřebě O_2 (kalorigenní účinek), disociaci kyslíku z hemoglobinu, dále pak hormony štítné žlázy ovlivňují růst (proteosyntézu) a vývoj organismu, ovlivňují metabolismus tuků a vstřebávání a metabolismus (glukoneogeneze, glykogenolýza) cukrů ze střeva. Kalorigenní účinek hormonů štítné žlázy se uplatňuje téměř ve všech metabolicky aktivních tkáních, výjimku tvoří mozek dospělých jedinců, gonády, lymfatické uzliny, slezina a adenohipofýza. Neopomenutelný účinek mají hormony štítné žlázy a dostatečný přívod jódu na vývoj plodu během intrauterinního vývoje, protože hormony štítné žlázy (zejména tyroxin) ovlivňují produkci somatotropinu (STH) z adenohipofýzy, a k uplatnění účinků STH je v periferních tkáních také potřeba dostatečná hladina tyroxinu (Blahoš et al., 2006; Ganong, 2005; Greenspan, 2003).

2.9 Strumigenní látky a jejich dopad na metabolismus štítné žlázy

Strumigenní látky ovlivňují funkci štítné žlázy tím, že narušují mechanismus jodidové pumpy či blokují organifikaci jódu při syntéze hormonů štítné žlázy. Následkem je pokles hladiny hormonů v krvi, což vede ke zvýšené sekreci TSH a při dlouhodobém trvání tohoto stavu dochází k rozvoji strumy (Ganong, 2005).

Látky se strumigenním účinkem jsou jak přírodní, tak i člověkem produkované látky. Mezi přírodní strumigeny tvořené rostlinami se řadí tiooxazolidony a izokyanáty (brukvovité rostliny), kyanogenní glykosidy (maniok, jetel), flavonoidy (proso, arašíd, sója) Mezi člověkem produkované strumigeny se považují polychlorované bifenyly, dioxiny, některé insekticidy a pesticidy, ftaláty a další (Langer, 1998).

Dávka glykosinulátů se strumigenním účinkem je relativně malá. Pailan et Singhal (2007) uvádí, že při podávání již 13 g hořčičných pokrutin na kus a den dojeným kravám sledoval pokles hladiny tyroxinu v krevní plazmě. Hladina trijódtyroninu nebyla ovlivněna. Franke et al. (2009) zjistil, že podávání řepkového extrahovaného šrotu (krmná dávka byla podávána *ad libitum* a obsahovala 33% řepkového extrahovaného šrotu ze sušiny krmné dávky - obsah glukosinulátů byl $3,5 \mu\text{mol}\cdot\text{kg}^{-1}$ sušiny KD) u krav výrazně snížilo (téměř na polovinu) koncentraci jódu v mléce.

Látky, jako je kyselina paraamoninosalicylová, tiobarbituráty, sulfonylureny, blokují organifikaci a kondenzaci jódu při syntéze hormonů štítné žlázy. Dále pak SO_4^{2-} způsobuje snížení oxidační kapacity peroxidáz. Tím dochází k blokaci všech stupňů biosyntézy hormonů. Při dostatečné dávce těchto látek dochází zcela k zastavení syntézy hormonů a tento stav nelze kompenzovat zvýšenými dávkami jódu (Ganong, 2005; Langer, 1998; Límanová, 2002). Naopak jednomocné anionty (chlorát, bromid, fluoroborát, pertechnát, perjodát, bijodát, nitrát, perchlorát, thiokyanát) způsobují inhibici funkce jodidové pumpy. Takto způsobné inhibici vychytávání jodidu lze zabránit podáváním zvýšeného množství jodidu (Kroupová et al., 1998; Langer, 1998).

Další látkou s určitým strumigenním účinkem je vlastní jodid. Strumigenní účinek spočívá jednak ve snížení reakce cyklického AMP na TSH a současně způsobuje inhibici proteolýzy tyreoglobulinu, která je způsobena sníženou aktivitou peroxidáz. Nadbytek jodidu ovlivňuje produkci inositol trifosfátu a Ca^{2+} , které stimulují funkci tyreocytu. Nadbytek přijímaného jodidu dále silně negativně ovlivňuje funkci NIS

(natrium-iodide symporter) Greenspan (2003). Dalším účinkem nadměrných dávek jodidu je inhibice organické vazby jodidu v tyreocytech a tím i vlastní syntézy hormonů štítné žlázy díky snížené tvorbě TSH. Tento dopad vysokých dávek jodidu je v literatuře znám jako Wolff-Chaikoff efekt (Burgi, 2010; Čeřovská et al., 2006; Ganong, 2005; Límanová et al., 1995; Pokorný, 2001).

2.10 Potřeba jódu pro přežvýkavce

Údaje o denní potřebě jódu ve výživě přežvýkavců je prezentována řadou autorů a organizací. NRC (2007) doporučuje pro ovce dávku 0,5-0,8 mg jódu na kg sušiny krmné dávky. Pro telata a mladý skot NRC (2001) doporučuje 0,25-0,5 mg jódu na kg sušiny krmné dávky, pro jalovice 0,3 mg jódu. Dojnice v období stání na sucho potřebují podle stejného zdroje 0,36 mg, březí dojnice 0,6 mg a laktující dojnice 0,8 mg jódu na kg sušiny krmné dávky. Stejnou dávku pro laktující krávy doporučuje i Sommer et al. (1994), který mimo jiné doporučuje pro výpočet denní potřeby jódu zohlednit i užítkovost dojnic a na každý litr vyprodukovaného mléka doporučuje suplementovat krmnou dávku o 0,6 mg jódu. Podle nařízení evropské komise ES (1459/2005) je maximální povolená dávka pro dojnice a nosnice 5 mg jódu na kg 88 % sušiny krmné dávky. Dále z tohoto dokumentu vyplývá, že u dalších druhů a kategorií hospodářských zvířat (s výjimkou koňovitých a ryb) je maximální dávka 10 mg jódu na kg 88% sušiny krmné dávky.

2.10.1 Obsah jódu v krmivech rostlinného původu

Obsah jódu v krmivech rostlinného původu záleží na geologických podmínkách stanoviště. Mobilita jódu v půdě je vysoká, protože jód se v půdě nachází ve formě lehce rozpustných solí zejména jodidů (nejčastěji jodid sodný – NaI). Tyto soli jsou dešťovou vodou vymývány a následně povrchovou vodu transportovány do moří, která jsou nejvýznamnějším rezervoárem. Z mořské vody se jód uvolňuje do atmosféry a s dešťovou vodou je přenášen na pevninu a znovu se zapojuje do koloběhu (Langer, 1998; Zamrazil, 2004). Obsah jódu v objemných krmivech se pohybuje na území jižních Čech od 110,0 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ sušiny u kukuřičné siláže do 213,3 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ sušiny u travních porostů. Na

obsahu jódu v travních porostech se výrazně odráží i termín sklizně. Obsah jódu v pastevních porostech v období května až června je i více jak dvakrát nižší než v období srpen-říjen (Trávníček et al., 2004).

2.11 Dopad neúměrných dávek jódu na strukturu a funkci štítné žlázy

2.11.1 Dopad nedostatečných dávek jódu na štítnou žlázu

Nejznámějším dopadem nedostatečného příjmu jódu je difúzní hyperplastická struma (viz. kapitola 2.5.1.1). Toto onemocnění se dnes u hospodářských zvířat vyskytuje jen sporadicky díky jódové suplementaci soli a minerálních krmných přísad (La Perle et Capen, 2007). Krupp et Lee (1988) uvádí, že dlouhodobé podávání nedostatečných dávek jódu v pokusu na potkanech vedlo až k trojnásobnému zvýšení hmotnosti štítné žlázy, snížení velikosti folikulů, dilataci kapilár obepínajících folikuly či zvýšení frekvence mitózy. Dále autor pozoroval výrazné zvýšení folikulárních buněk, které obsahovaly hojně dilatované endoplazmatické retikulum, a bylo zjištěno prodloužení mikrokvlků a redistribuci mitochondrií směrem k lumenální ploše tyreocytů.

2.11.2 Dopad vysokých dávek jódu na štítnou žlázu

Na struktuře štítné žlázy se nadbytek jódu může odrazit ve snižování rozměrů tyreocytů, zvětšováním rozměrů folikulů v důsledku hromadění koloidu. Hmotnost štítné žlázy je zpravidla nižší, v některých případech dochází k růstu štítné žlázy v důsledku hromadění koloidu a vzniká tzv. koloidní struma (viz. kapitola 2.5.1.2). Dochází ke snižování výšky a atrofii tyreocytů, lumenální plocha epitelu je hladká a nejsou přítomny endocytické vakuoly (Deborah et Stabenfeldt, 2007; La Perle et Capen, 2007; Many et al., 1986; Trávníček et al., 1999; Wolman et al., 1990). Krupp et Lee (1988) pozoroval v tyreocytech potkanů s dlouhodobým vysokým příjmem jódu přítomnost neobvykle tvarovaných a „zbarvených“ lysozomů.

Pauliková et al. (2002) uvádí, že údaje o dopadu vysokých dávek jódu na štítnou žlázu skotu jsou velice proměnlivé. Uvádí, že u krav již při příjmu 10 ti násobku denního doporučeného příjmu (tj. $107 \text{ mg} \cdot \text{den}^{-1}$) bylo zjištěno zvětšení štítné žlázy. Stejně dopady byly pozorovány i u telat.

Zvýšená hladina krevního jodidu narušuje jeden z kroků syntézy a sekrece hormonů štítné žlázy, což vede k snížení hladiny krevního T_3 a T_4 a má za následek zvýšení sekrece TSH. Nadbytek jódu dále blokuje proteolýzu koloidu lysosomálními enzymy uvnitř tyreocytu a tím pádem uvolňování T_3 a T_4 do krve (La Perle et Capen, 2007).

Dušová et al. (2012b) uvádí, že u ovcí a jejich jehňat byly při příjmu 3 a 5 $\text{mg I} \cdot \text{kg}^{-1}$ sušiny krmné dávky pozorovány rozdíly v postnatální dynamice hladin TSH, hladiny volných frakcí a celkové hladiny T_3 a T_4 .

Shan et al. (2009) popisuje, že při dlouhodobém pokusu na potkanech se projevil již trojnásobek doporučeného denního příjmu jódu a to v zadržování koloidu ve folikulech (zvětšování rozměrů folikulů) a zplošťování folikulárního epitelu u velkých a středních folikulů. Naopak popisuje zvětšení folikulárních buněk v malých folikulech. Dále uvádí, že bylo pozorováno snížení výšky mikroklků, degranulizace a dilatace hrubého endoplazmatického retikula (dilatace kanálků) či zvětšení mitochondrií.

Dalším dopadem zvyšujících se dávek jódu přijímaného z prostředí je koncentrace jódu ve štítné žláze. Teng et al. (2009) uvádí, že koncentrace jódu ve štítné žláze je dobrým indikátorem příjmu jódu z prostředí. Meyer et al. (2008) v experimentu na býčích ve výkrmu sledoval dopad diferencovaných dávek jódu v krmné dávce na koncentraci jódu ve štítné žláze (tabulka 1) a uvádí, že koncentrace jódu ve štítné žláze stoupá nelineárně. Například Franke et al. (2006), který sledoval stejnou problematiku u prasat, rovněž pozoroval nelineární vzestup koncentrace jódu ve štítné žláze. Na rozdíl od předchozího autora však uvádí téměř trojnásobné hodnoty při stejné dávce jódu v krmné dávce (tabulka 2). Kolypetri et al. (2010) poukazuje, že koncentrace jódu ve tyreoglobulinu je závislá na zdravotním stavu štítné žlázy. Autor pozoroval v pokusu na potkanech s genetickou predispozicí pro vznik autoimunní thyreoditis, že takto postižená zvířata vykazovala výrazně nižší koncentrace jódu v tyreoglobulinu.

Tabulka 1 - Koncentrace jódu ve štítné žláze býků při diferencovaných dávkách jódu (Meyer et al., 2008)

	Obsah jódu v krmné dávce (mg•kg ⁻¹)		
	0,5	4	10
průměr (ug•g ⁻¹)	378 ^a	495 ^a	844 ^b
S _x	91	125	558

^{a,b} P<0,05

Tabulka 2 - Koncentrace jódu ve štítné žláze prasat s diferencovaným příjmem jódu (Franke et al., 2006)

	Obsah jódu v krmné dávce (mg•kg ⁻¹)				
	0,17	0,5	1	2	5
průměr (ug•g ⁻¹)	620 ^a	1054 ^b	1154 ^b	1699 ^c	1645 ^c
S _x	71	280	191	184	169

^{a,b,c} P<0,05

2.11.3 Dopad příjmu jódu a funkce štítné žlázy na metabolismus přežvýkavců

Dopadem vysokých přijímaných dávek jódu je i zvýšení koncentrace jódu v tělesných tekutinách (mléko, moč) a v některých tkáních. Zvýšení koncentrace jódu v mléce popsala řada autorů (Flachowsky et al., 2006; Grace et Waghorn, 2005) a souhlasně uvádí, že hladina jódu v mléce lineárně stoupá s koncentrací přijímaného jódu. Flachowsky et al. (2007) upozorňuje, že i používání jód obsahujících desinfekčních prostředků pro desinfekci struků výrazným způsobem zvyšuje koncentraci jódu v kravském mléce. Flachowsky (2007) popisuje, že obsah jódu v různých tkáních pokusných býků je velice rozdílný. Nejmenší koncentrace byly zjištěny v kosterní svalovině (*m. longissimus lumborum et thorasis*, *m. gluteaus medius*) zato v játrech a ledvinách byly zjištěny 2-7 krát

vyšší hodnoty. Autor dále uvádí, že koncentrace jódu v těchto tkáních nestoupá lineárně s jeho příjmem.

Funkce štítné žlázy ovlivňuje jak produkci (mléčná užitkovost, obsah tuku v mléce, intenzita růstu, růst vlny) tak reprodukční parametry samic a samců (Huszenicza et al., 2002; Lebreton et al., 2006; Ruffin et al., 2012; Wagner et al., 2008; Wajner et al., 2009). Jak uvádí Fowden et al. (2001), snížená funkce štítné žlázy bahnic negativně ovlivňuje hladinu inzulinu podobných růstových faktorů a somatotropinu a tím negativně ovlivňuje vývoj jehňat. Dušová et al. (2012a) uvádí, že u ovcí a jejich jehňat se sníženou funkcí štítné žlázy bylo pozorováno snížení imunitních parametrů krve. Ke stejným výsledkům došel i Chen et al. (2007) při pokusech na myších. Nudda et al. (2009) uvádí, že zvýšený příjem jódu u dojených koz neovlivnil tučnost mléka, ale byla zjištěna klesající hladina močoviny s rostoucím příjmem jódu. Bedi et al. (2000) pozoroval u mladých koz zařazených v pokusu s vyšším příjmem jódu (0,8 mg jódu na kg sušiny krmné dávky) větší průměrný denní přírůstek v porovnání se skupinami s nižším příjmem (0,04 mg jódu na kg sušiny krmné dávky).

3 Cíl disertační práce

Cílem disertační práce je rozšíření poznatků o dopadech různě vysokých dávek alimentárního jódu na morfometrické parametry (výška epitelu, rozměry folikulů) proliferační aktivitu epiteliálních buněk a dalších parametrů jako je hmotnost celého orgánu či koncentrace jódu ve štítné žláze ovcí a skotu.

Hypotéza: Lze předpokládat, že dlouhodobě podávané vysoké dávky jódu budou mít dopad na strukturu štítné žlázy a další parametry, který bude závislý na velikosti dávky.

Díličními cíli jsou:

- Posouzení vlivu vysokého alimentárního příjmu jódu a příjmu strumigenů na strukturu a další parametry štítné žlázy jehnic

- Zjištění vztahu mezi koncentrací jódu ve štítné žláze a morfometrickými parametry štítné žlázy

- Posouzení dopadu zvýšených dávek jódu a selenu na morfometrické parametry štítné žlázy

4 Materiál a metodika

4.1 Charakteristika pokusů na ovcích a popis jejich organizace

V rámci řešení disertační práce zaměřené na hodnocení vlivu zvýšených dávek jódu na morfometrické a vybrané funkční parametry štítné žlázy přežvýkavců byly uskutečněny 3 experimenty na ovcích plemene šumavská ovce a cílený průzkum u jatečného skotu. Experimentální zvířata užitá ve všech 3 pokusech byla ustájena skupinově ve společných boxech akreditované pokusné stáje účelového zařízení Školního zemědělského podniku Jihočeské univerzity v Českých Budějovicích. Na 1 bahnici připadalo 1.6 m² ustajovací plochy a 38 cm krmného žlabu.

4.1.1 Pokus č. 1: Vliv diferencovaného příjmu jódu a selenu na morfometrické parametry štítné žlázy jehňat

V roce 2009 proběhl pokus na 14 jehňatech rozdělených do 3 skupin (A, B, K), jejichž matky v průběhu gravidity a po dobu laktace přijímaly v krmné dávce odlišný obsah jódu a selenu (tabulka 3). Krmná dávka všech 3 skupin byla totožná, odlišovala se pouze ve složení minerálního premixu, který byl součástí jaderné krmné směsi (tabulka 4). Minerální krmná přísada obsahovala selen a jod v podobě jodem respektive selenem obohacené sladkovodní řasy *Chlorella*. Všechna zvířata přijímala vodu ze stejného vodního zdroje (veřejný vodovod). Jaderné krmivo jehňat mělo obdobné složení jako jaderné krmivo jejich matek (příkrm, krmná dávka po odstavu). Pokus s jehňaty trval 5 měsíců od narození jehňat do jejich jatečné porážky. Po porážce byla jehňatům odebrána štítná žláza podle metodiky popsané v kapitole 4.2.1 „Odběr a zpracování vzorků“.

Tabulka 3- Charakteristika pokusných skupin jehňat

		Obsah jódu v KD (mg•kg ⁻¹ suš.)	Obsah selenu v KD (mg•kg ⁻¹ suš.)	Hmotnost (kg)	Věk při porážce (měsíce)
Jehňata A	4	1,4	0,4	21,11±2,36	5
Jehňata B	6	0,7	0,4	19,48±2,75	5
Jehňata K	4	0,7	0,2	19,51±2,43	5

Tabulka 4 - Složení pokusné krmné dávky

Komponenta	Množství (g)
Luční seno	<i>ad libitum</i>
Vojtěšková moučka	132,3
Pšeničný šrot	81,7
Ječný šrot	80,7
Premix•	5,3

• Minerální premix obsahoval jód ve formě jodičnanu sodného (rozdílnou dávku pro jednotlivé skupiny v rámci pokusu), 20 mg Co, 6000 mg Zn, 30 mg Se (kromě prvního pokusu), 1000 mg Cu, 5100 mg Mn, 900 000 IU vit. A, 110 000 IU vit. D3, 1500 mg vit. E.

4.1.2 Pokus č. 2: Vliv dlouhodobého příjmu vysokých dávek jódu na morfometrické parametry štítné žlázy ovcí, jejich jehňat a jalových jehnic

V roce 2010 byl realizován pokus, který byl zaměřen na dlouhodobé dopady vysokých dávek jódu (3 a 5 mg I•kg⁻¹ sušiny KD) na strukturu a funkci štítné žlázy u skupin jalových jehnic, bahnic a jejich jehňat. Pokus probíhal celkem 11 měsíců na jehnicích (n=12), bahnicích (n=12) a jejich jehňat (n= 7) plemene šumavská ovce. Po skončení pokusu byla zvířata jatečně porážena a byl u nich proveden odběr vzorků štítné žlázy tak, jak je popsán v kapitole 4.2.1 „Odběr a zpracování vzorků“.

Bahnice a obdobně i jehnice byly rozděleny po 6 kusech do dvou skupin podle obsahu jódu v krmné dávce (tabulka 5). Krmná dávka bahnic skupiny A a jehnic skupiny A obsahovala 3 mg I•kg⁻¹ sušiny KD, zatímco skupiny bahnice B a jehnice B přijímaly 5 mg I•kg⁻¹ sušiny krmné dávky. Složení krmné dávky bylo obdobné jako v pokuse č. 1, odlišné bylo složení minerálního doplňku (minerálního premixu).

Tabulka 5 - Charakteristika pokusných bahnic a jehnic (pokus č. 2)

	Příjem jódu (mg I•kg ⁻¹ suš. KD)	Hmotnost (kg)	Věk při porážce (měsíce)
Bahnice A	3	46,09±3,98	77
Bahnice B	5	47,17±7,67	77
Jehnice A	3	72,30±9,87	40
Jehnice B	5	69,45±7,14	40

4.1.2.1 Charakteristika skupin jehňat (pokus č. 2)

Obě skupiny jehňat pocházely od bahnic skupiny A a B. Prenatální vývoj jehňat probíhal pod zátěží vysokých dávek jódu. Po narození mláďata zůstala až do ukončení pokusu u matek a přijímala mléko pokusných bahnic (tabulka 6). Jehňata byla ve věku 4,5 měsíce jatečně porážena a byl proveden odběr vzorků štítné žlázy podle již popsané metodiky. Účelem této dílčí části pokusu bylo zhodnocení dopadu prenatálního diferencovaného nadbytečného příjmu jódu u bahnic na strukturu štítné žlázy jehňat.

Tabulka 6 - Charakteristika pokusných skupin jehňat (pokus č. 2)

	n	Příjem jódu v KD matek (mg I•kg ⁻¹ suš.)	Jód v mléce matek (µg•l ⁻¹)	Hmotnost (kg)	Věk při porážce (měsíce)
Jehňata C	4	3	5774,75±682,19	24,13±3,91	4,5
Jehňata D	3	5	5576,12±1113,14	23,48±1,05	4,5

4.1.3 Pokus č. 3: Vliv příjmu vysokých dávek jódu a strumigenních látek na morfometrické parametry štítné žlázy jehnic

V roce 2011 byl proveden pokus na 12 jalových jehnicích, které byly rozděleny po 6 ti do 2 skupin (A, B). Záměrem pokusu bylo vyhodnocení dopadu příjmu strumigenů na strukturu a funkci štítné žlázy při současném vysokém alimentárním příjmu jódu ($10 \text{ mg I} \cdot \text{kg}^{-1}$ sušiny KD). Pokus byl ukončen po deseti měsících, po jatečné porážce byla odebrána štítná žláza. Bližší charakteristika skupin je uvedena v tabulce 7. Krmná dávka se skládala z lučního sena a krmné směsi (vojtěšková moučka, pšeničný šrot, ječný šrot, minerální premix) obdobně jako v předcházejících pokusech (tabulka 4). Kontrolní skupina (jehnice C) přijímala v krmné dávce $10 \text{ mg I} \cdot \text{kg}^{-1}$ sušiny KD a pokusná skupina (jehnice D) přijímala rovněž $10 \text{ mg I} \cdot \text{kg}^{-1}$ sušiny KD ale mimo to ještě krmná směs obsahovala strumigenní látky (řepkový extrahovaný šrot, dusičnan sodný – $1 \text{ g} \cdot \text{ks}^{-1}$ a den).

Tabulka 7 - Charakteristika skupin jehnic (pokus č. 3)

	Příjem jódu ($\text{mg I} \cdot \text{kg}^{-1}$ suš. KD)	Hmotnost (kg)	Věk při porážce (měsíce)
Jehnice C	10	$45,22 \pm 3,31$	19
Jehnice D	$10 \bullet$	$42,97 \pm 2,95$	19

• krmná dávka obsahovala řepkový extrahovaný šrot a dusičnan sodný – $1 \text{ g} \cdot \text{ks}^{-1}$ a den

4.1.4 Morfologické a morfometrické parametry štítné žlázy jatečného skotu

Štítné žlázy skotu byly získány v jatečném provozu firmy ZŘUD s.r.o. v Písku. Celkem byly vzorky pro histologickou úpravu odebrány od 29 krav, 10 býků, 7 jalovic a 4 telat. Při odběru byl odebrán i vzorek pro stanovení koncentrace jódu ve štítné žláze (jako parametr příjmu jódu). Zvířata pocházela celkem z patnácti chovů z oblasti jižních, středních a západních Čech (tabulka 8).

Tabulka 8 - Charakteristika skotu

	Hmotnost (kg)	Věk při porážce (měsíce)
Krávy	580,04±113,39	53,21±15,72
Býci	797,56±119,61	24,06±6,13
Jalovice	520,22±52,49	24,51±12,30
Telata	107,37±6,00	4,14±1,30

4.2 Metody a laboratorní postupy

Vzorky štítné žlázy pro histologické zpracování byly odebrány ihned po porážce zvířat. Byla provedena preparace obou laloků a istmu štítné žlázy. Celá štítná žláza byla očištěna od zbytků tukové a vazivové tkáně a zvážena na digitálních vahách. Vzorek pro další histologickou úpravu (o velikosti cca 1cm³) byl odebrán ze středu pravého laloku. Odebrané vzorky byly fixovány v roztoku 10% formalínu. Po fixaci byly vzorky zpracovány klasickou parafinovou metodou, nakrájeny mikrotomem na řezy o tloušťce 5 μm a fixovány na podložní sklo (tabulka 9) a obarveny hematoxylinem a eosinem nebo metodou PCNA pro imunohistochemický průkaz proliferace tyreocytů.

Tabulka 9 - Postup histologické úpravy vzorků

Odvodnění (autotechnikon AT4)	etanol 70 % - 2,5 hod; etanol 80 % - 2,5 hod; etanol 96 % 3 hod (3x); acetón a xylen (1:1) – 20 minut
Prosycení parafínem (autotechnikon AT4)	parafín – 3 hod; parafín 2,5 hod
Zalítí do parafinových bloků	
Řezání na mikrotonu (Reichert)	
Přilepení řezu na podložní sklo	křemencová želatina, silanizovaná skla
Barvení preparátů	hematoxylinem a eosinem, PCNA
Odvodnění a montování preparátů	kanadský balzám

4.2.1 Postup barvení histologických řezů hematoxylinem a eosinem

Pro potřeby morfometrického měření a histopatologického vyšetření byly řezy na podložní sklo fixované křemencovou želatinou obarveny hematoxylinem a eosinem podle následujícího postupu (tabulka 10).

Tabulka 10 - Postup barvení hematoxylinem a eosinem

Odparafinování a zavodnění vzorků	xylen – 5 minut (3x); etanol 96 % - 5 minut (2x); etanol 70 % - 5 minut
Vypírání ve vodovodní vodě	
Oplach destilovanou vodou	
Barvení hematoxylinem	hematoxylin dle Kod'ouska – 5-7 minut
Alkalizace vodovodní vodou	10 minut
Oplach destilovanou vodou	
Barvením eosinem	vodný roztok eosinu 0,1 % - 5 minut
Odvodnění řezů	etanol 80 % - 1 minuta; etanol 96 % - 1 minuta (2x); aceton – 1 minuta (2x); aceton:xylen (1:1) – 1 minuta; xylen – 1 minuta (2x)
Montáž řezů	kanadský balzám

4.2.2 Imunohistochemické barvení (PCNA)

Pro prokázání proliferační aktivity tyreocytů byla využito křížové reaktivity myší monoklonální protilátky proti nukleárnímu antigenu proliferujících buněk (PCNA – proliferation cell nuclear antigen) firmy Dako klon PC10. K vizualizaci vazby primární protilátky byl použit detekční systém Dako EnVision™.

4.2.3 Měření morfometrických parametrů a zjišťování proliferační aktivity (PCNA) tyreocytů

Ze zpracovaných a obarvených preparátů byly pomocí programu pro obrazovou analýzu Leica IM 500 Version 4.0. pořízeny fotografie, na kterých bylo ve stejném programu provedeno měření morfometrických parametrů štítné žlázy.

4.2.3.1 Měření rozměrů folikulů

Ve třech zorných polích z různých částí řezu bylo proměřeno celkem 60 folikulů. U každého změřeného folikulu byla zjištěna délka (nejdelší rozměr), šířka (nejdelší rozměr folikulu kolmý na délku) a plocha folikulu (plocha ohraničená bazální membránou folikulu). Následně byly folikuly rozděleny do tří velikostních kategorií na velké (175,1-615,0 μm), střední (80,1-175,0 μm) a malé (15,1-80,0 μm) (Jelínek et al., 2003).

U každé velikostní kategorie folikulů byl zjištěn rozměr celkem 20 folikulárních buněk. Výška folikulárních buněk byla měřena jako kolmý rozměr mezi bazální membránou a lumenální plochou tyreocytu.

4.2.3.2 Stanovení proliferační aktivity (PCNA) tyreocytů

Jako parametr proliferační aktivity tyreocytů byl použit počet silně na PCNA pozitivních jader tyreocytů v deseti různých zorných polích při dvěstěnásobném zvětšení mikroskopu.

4.2.4 Stanovení koncentrace jódu ve štítné žláze

Koncentrace jódu ve štítné žláze byla stanovena modifikovanou kolorimetrickou metodou (Sandell a Kollthoff) po alkalické digesci materiálu (Bednář et al., 1964).

4.2.5 Stanovení hmotnosti a relativní hmotnost štítné žlázy

Hmotnost vypreparované a očištěné štítné žlázy byla zjištěna pomocí přenosných digitálních vah s přesností na setiny gramu. Relativní hmotnost štítné žlázy byla vypočítána jako procentuální podíl zjištěné hmotnosti štítné žlázy ze živé hmotnosti před porážkou.

4.2.6 Statistické hodnocení výsledků

Získané výsledky byly zpracovány a vyhodnoceny v programu STATISTICA 7.0. (StatSoft, Inc.) pomocí analýzy rozptylu, Tukeyovým HSD testem a regresní a korelační analýzou na hladině významnosti 0,05 popřípadě 0,01.

Průměrné velikosti folikulů či tyreocytů bez ohledu na velikostní kategorie folikulů byly počítány jako vážený průměr (váhou bylo zastoupení jednotlivých velikostních kategorií folikulů).

5 Výsledky a diskuze

5.1 Pokus č. 1: Vliv diferencovaného příjmu jódu a selenu na morfometrické parametry štítné žlázy jehňat

5.1.1 Hmotnost a relativní hmotnost štítné žlázy jehňat

Nejvyšší průměrné i relativní hmotnosti štítné žlázy byly zjištěny u jehňat z kontrolní skupiny K, která se statisticky ($P < 0,05$) významně lišila od zbývajících skupin. Rozdíly mezi kontrolní skupinou K a zbývajících pokusnými skupinami dosahovaly 35 % až 39 % a to jak hmotnosti štítné žlázy, tak i v relativní hmotnosti štítné žlázy. Mezi jehňaty skupiny A a skupiny B rozdíly v průměrné ani relativní hmotnosti štítné žlázy zjištěny nebyly (tabulka 11). Krabačová (2002), která na jehňatech zjišťovala dopad denního příjmu 0,25 mg jódu a 0,25 mg selenu uvádí ve srovnání s našimi výsledky výrazně nižší hodnoty obou sledovaných parametrů (0,9-1,7 g; 0,010-0,027 %). Závislost mezi obsahem jódu ve štítné žláze a její hmotností vyjadřuje korelační koeficient $r = -0,47$. Podobně tak byla prokázána negativní korelace ($r = -0,41$) mezi obsahem jódu v krmné dávce a hmotností štítné žlázy a relativní hmotností štítné žlázy. V tabulce 12 jsou uvedeny korelační závislosti mezi hmotností štítné žlázy a histometrickými parametry.

Tabulka 11 - Hmotnost a relativní hmotnost štítné žlázy jehňat

	Hmotnost štítné žlázy (g)		Relativní hmotnost (%)	
	průměr	s_x	průměr	s_x
Jehňata A	1,88 ^a	0,18	0,06267 ^a	0,00613
Jehňata B	1,81 ^a	0,49	0,06024 ^a	0,01619
Jehňata K	2,95 ^b	0,44	0,09822 ^b	0,01471

^{a,b} $P < 0,05$

Příjem jódu u jednotlivých skupin: Jehňata A – 1,4 mg I•kg⁻¹ suš. KD; Jehňata B – 0,7 mg I•kg⁻¹ suš. KD; Jehňata K – 0,7 mg I•kg⁻¹ suš. KD. Příjem selenu u jednotlivých skupin: Jehňata A – 0,4 mg Se•kg⁻¹ suš. KD; Jehňata B – 0,4 mg Se•kg⁻¹ suš. KD; Jehňata K – 0,2 mg Se•kg⁻¹ suš. KD

Tabulka 12 - Korelace mezi hmotností štítné žlázy a vybranými parametry štítné žlázy u jehňat

Parametr		Korelační koeficient
Hmotnost štítné žlázy (g)	Procento velkých folikulů (%)	-0,28
Hmotnost štítné žlázy (g)	Délka velkých folikulů (μm)	0,24
Hmotnost štítné žlázy (g)	Délka středních folikulů (μm)	-0,43
Hmotnost štítné žlázy (g)	Délka malých folikulů (μm)	0,27
Hmotnost štítné žlázy (g)	Plocha velkých folikulů (μm ²)	-0,69
Hmotnost štítné žlázy (g)	Výška epitelu velkých folikulů (μm)	0,27
Hmotnost štítné žlázy (g)	Výška epitelu malých folikulů (μm)	0,20

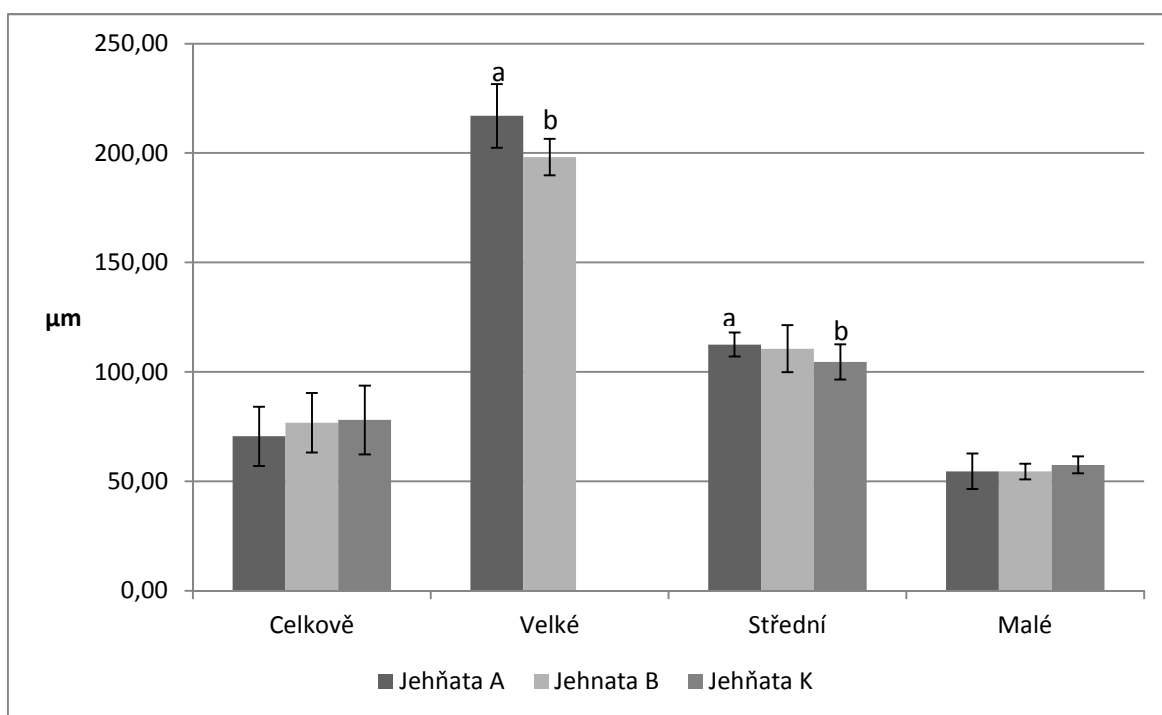
5.1.2 Histometrické parametry štítné žlázy jehňat

5.1.2.1 Délka, šířka a plocha folikulů jehňat

Délka folikulů

Rozdíly v průměrné délce folikulů (bez ohledu na velikostní kategorie folikulů) nebyly prokázány, délka folikulů se pohybovala mezi 70,58 – 78,01 μm. Krabačová (2002) uvádí u pokusných jehňat, jejichž matky přijímaly v krmné dávce 0,25 mg jódu 0,25 mg selenu, výrazně větší velikost folikulů (99,90 μm). U jehňat, která přijímala 0,25 mg jódu a strumigenní látky autorka uvádí délku folikulů 99,57 μm. Kóňová et al. (1999a) uvádí u jehňat s příjmem 1,5 mg jódu na kg sušiny KD průměrnou velikost folikulů 70,89±1,54 μm. Byly zjištěny rozdíly (P<0,05) v rozměrech velkých folikulů mezi skupinami jehňat A a B. Skupina jehňat A vykázala o 9 % větší délku folikulů než skupina B. U skupiny K nebyly velké folikuly zjištěny. U skupiny A byly zjištěny největší rozměry středních folikulů v porovnání se zbývajících skupinami. Rozdíl mezi skupinou A a K byl statisticky významný (P<0,05). Skupina A vykázala o 7,7 % větší rozměry, než skupina B. V rozměrech malých folikulů nebyly mezi skupinami statisticky významné rozdíly (graf 1).

Graf 1 - Délka folikulů jehňat



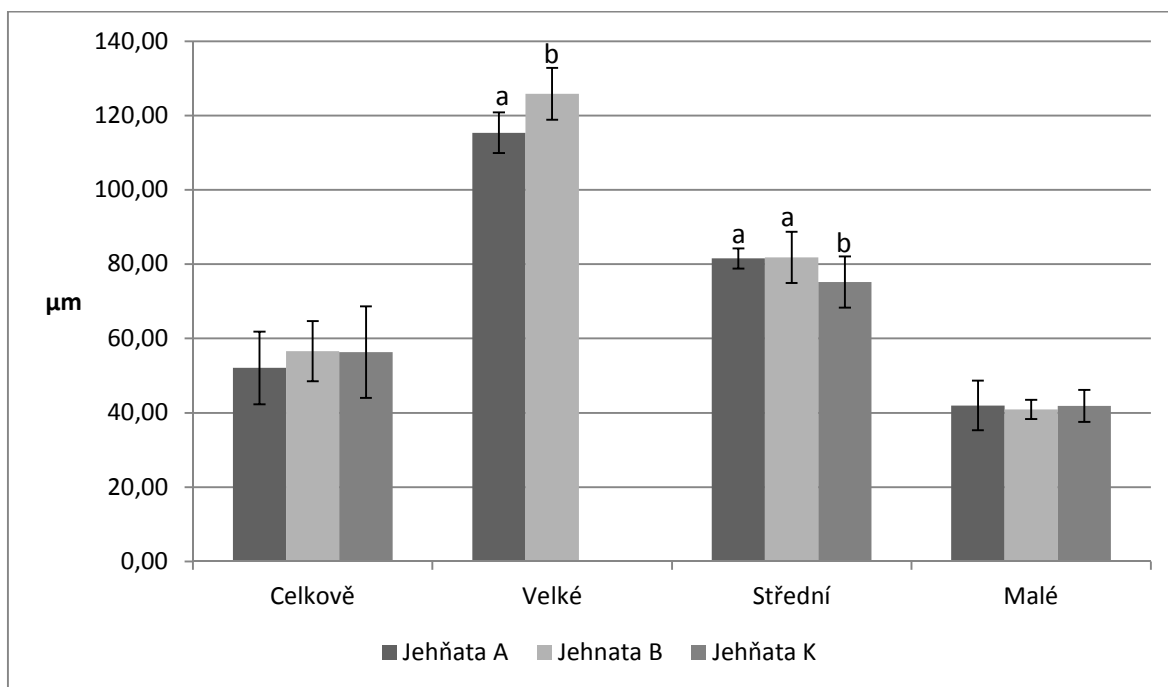
^{a,b} $P < 0,05$

Příjem jódu u jednotlivých skupin: Jehňata A – 1,4 mg $I \cdot kg^{-1}$ suš. KD; Jehňata B – 0,7 mg $I \cdot kg^{-1}$ suš. KD; Jehňata K – 0,7 mg $I \cdot kg^{-1}$ suš. KD. Příjem selenu u jednotlivých skupin: Jehňata A – 0,4 mg $Se \cdot kg^{-1}$ suš. KD; Jehňata B – 0,4 mg $Se \cdot kg^{-1}$ suš. KD; Jehňata K – 0,2 mg $Se \cdot kg^{-1}$ suš. KD

Šířka folikulů

V průměrné šířce folikulů (bez ohledu na velikostní kategorie folikulů) nebyly zjištěny rozdíly. Zjištěné hodnoty u pokusných i kontrolní skupiny byly výrazně nižší, než zjistila Krabačová (2002), autorka uvádí pro jehňata s příjmem 0,25 mg jódu a 0,25 mg selenu hodnotu $72,12 \pm 40,28 \mu m$. Při porovnání šířky velkých folikulů byl zjištěn signifikantní rozdíl mezi skupinami A a B, přičemž šířka folikulů u skupiny B byla o 8,3 % větší. Šířka středních folikulů skupin A a B byla stejná, o 8 % menší ($P < 0,05$) byla u jehňat skupiny K. Šířka malých folikulů se mezi jednotlivými skupinami jehňat nelišila (graf 2).

Graf 2 - Šířka folikulů jehňat



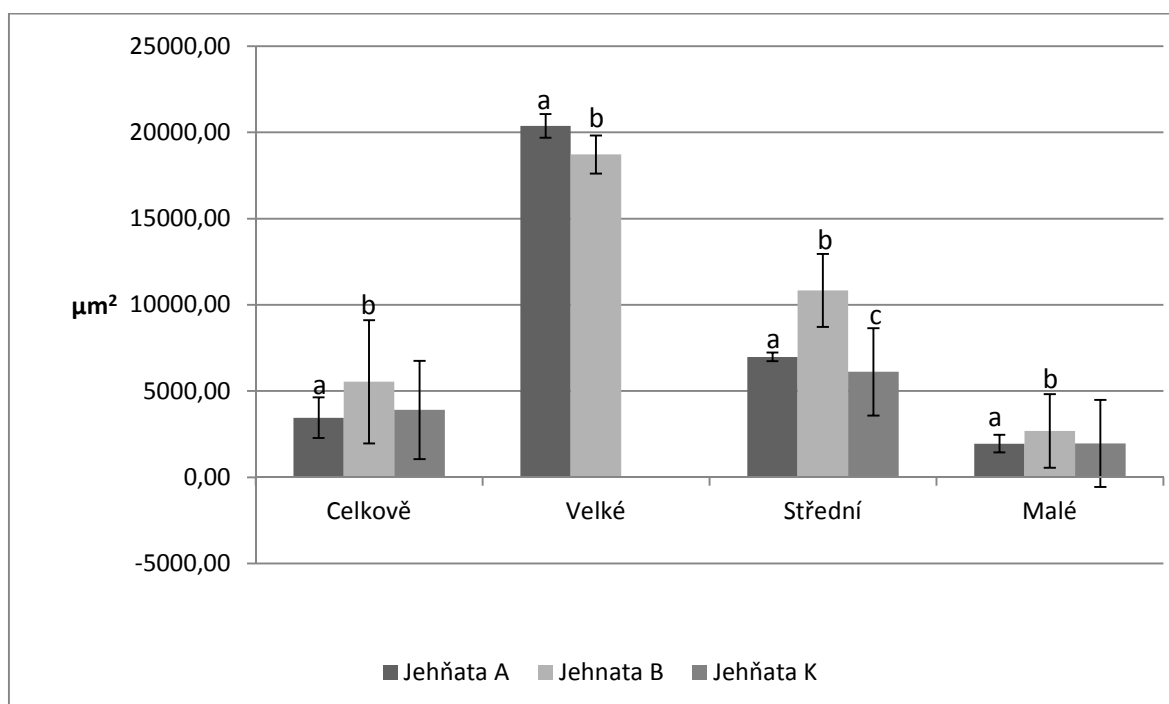
^{a,b} $P < 0,05$

Příjem jódu u jednotlivých skupin: Jehňata A – 1,4 mg I•kg⁻¹ suš. KD; Jehňata B – 0,7 mg I•kg⁻¹ suš. KD; Jehňata K – 0,7 mg I•kg⁻¹ suš. KD. Příjem selenu u jednotlivých skupin: Jehňata A – 0,4 mg Se•kg⁻¹ suš. KD; Jehňata B – 0,4 mg Se•kg⁻¹ suš. KD; Jehňata K – 0,2 mg Se•kg⁻¹ suš. KD

Plocha folikulů

Nejmenší průměrnou plochu folikulů (bez ohledu na velikostní kategorie folikulů) vykazovala skupina A. Rozdíl mezi skupinami A a B (37,7 %) byl signifikantní ($P < 0,05$). Skupina K se od skupin A a B statisticky nelišila díky vysokému rozptylu dat. Při porovnání ploch velkých folikulů byl zjištěn statisticky významný rozdíl ($P < 0,05$) mezi skupinami A a B. Skupina jehňat A, která přijímala v krmné dávce více jódu, vykazovala o 8 % větší plochu velkých folikulů. Nejvýraznější rozdíly byly pozorovány v plochách středních folikulů. Největší plocha středních folikulů byla u skupiny B (o 35,5 % a 43 %), nejmenší u kontrolní skupiny K. Rozdíly mezi všemi skupinami byly signifikantní ($P < 0,05$). Největší plocha malých folikulů byla pozorována u skupiny jehňat B (o 27 % větší než u skupiny A, $P < 0,05$). Skupina K se od zbývajících výrazně nelišila (graf 3).

Graf 3 - Plocha folikulů jehňat



a,b; a,c; b,c $P < 0,05$

Příjem jódu u jednotlivých skupin: Jehňata A – $1,4 \text{ mg I} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ suš. KD}$; Jehňata B – $0,7 \text{ mg I} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ suš. KD}$; Jehňata K – $0,7 \text{ mg I} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ suš. KD}$. Příjem selenu u jednotlivých skupin: Jehňata A – $0,4 \text{ mg Se} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ suš. KD}$; Jehňata B – $0,4 \text{ mg Se} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ suš. KD}$; Jehňata K – $0,2 \text{ mg Se} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ suš. KD}$

5.1.2.2 Procentuální zastoupení jednotlivých velikostních kategorií folikulů

Procentuální zastoupení velkých folikulů u skupin jehňat A a B se nelišilo. U skupiny jehňat K nebyly velké folikuly zastoupeny vůbec. Rozdíly v zastoupení středních folikulů mezi skupinami jehňat A, B a K nebyly prokázány. Nejvyšší průměrné zastoupení malých folikulů bylo zjištěno u skupiny A, nejnižší u jehňat skupiny B (tabulka 13). Souhlasně s výsledky Kóňové et al. (1999b), která sledovala histometrické parametry u pokusných jehňat s příjmem $1,5 \text{ mg}$ jódu na kg sušiny krmné dávky, jsme zaznamenali nejmenší zastoupení velkých folikulů a největší malých folikulů. Na rozdíl od našich výsledků uvádí Kóňová et al. (1999a) výrazně vyšší zastoupení středních (58-65 %) a nižší zastoupení malých folikulů (30-40 %).

Tabulka 13 - Procentuální zastoupení jednotlivých velikostních kategorií folikulů jehňat

	Velké		Střední		Malé	
	(%)		(%)		(%)	
	průměr	s _x	průměr	s _x	průměr	s _x
Jehňata A	1,67	1,36	26,11	13,43	72,22	14,68
Jehňata B	1,90	2,26	33,81	13,38	64,29	14,50
Jehňata K	-	-	32,78	17,71	67,22	17,71

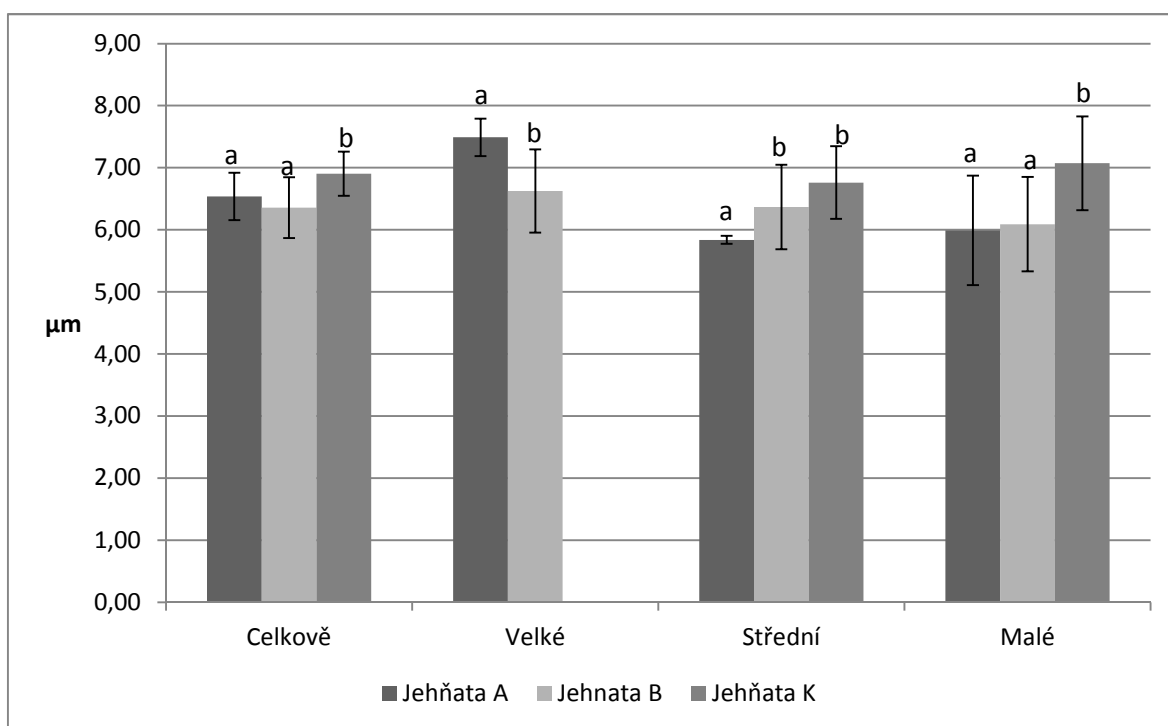
Příjem jódu u jednotlivých skupin: Jehňata A – 1,4 mg I•kg⁻¹ suš. KD; Jehňata B – 0,7 mg I•kg⁻¹ suš. KD; Jehňata K – 0,7 mg I•kg⁻¹ suš. KD. Příjem selenu u jednotlivých skupin: Jehňata A – 0,4 mg Se•kg⁻¹ suš. KD; Jehňata B – 0,4 mg Se•kg⁻¹ suš. KD; Jehňata K – 0,2 mg Se•kg⁻¹ suš. KD

5.1.2.3 Výška folikulárního epitelu jehňat

Nejvyšší celková výška tyreocytů (6,90±0,30 μm) byla zjištěna u skupiny K, která byla o 5,2 – 7,8 % signifikantně vyšší (P<0,05) než u obou pokusných skupin (graf 4). Ve srovnání s údaji (8,10 – 12,14 μm) Krabačové (2002), která sledovala výšku tyreocytů u jehňat s příjmem 0,25 mg I•kg⁻¹ sušiny KD, byly námi zjištěné hodnoty zřetelně nižší (6,36-6,90 μm). Naopak při porovnání s jehňaty (Kóňová et al., 1999b), která přijímala 0,25 mg jódu a 0,15 mg selenu (5,23±0,90 μm), je výška epitelu u pokusných skupin A a B, jejichž krmná dávka obsahovala 1,4 a 0,7 mg jódu na g sušiny KD, naopak znatelně vyšší (graf 4). Výrazně nižší hodnoty výšky epitelu (2,837-2,905 μm) u jehňat, která přijímala 1,5 mg jódu na kg sušiny krmné dávky udává Kóňová et al. (1999a).

Při porovnání výšky epitelu u velkých folikulů byl zjištěn statisticky významný rozdíl (P<0,05) mezi pokusnými skupinami. U skupiny jehňat A (s vyšším příjmem jódu) byla výška tyreocytů o 11,5 % větší než u skupiny B (graf 4). Na rozdíl od zbývajících velikostních kategorií se u velkých folikulů nepotvrdil předpoklad (Capen, 2006), že se vyšší dávka jódu odrazí na snížení folikulárního epitelu. Nejnižší tyreocyty v kategorii středních folikulů byly u skupiny A (P<0,05), nejvyšší v kategorii malých folikulů (P<0,05) byly u skupiny A (graf 4).

Graf 4 - Výška epitelu v jednotlivých velikostních kategoriích folikulů jehňat



^{a,b} P<0,05

Příjem jódu u jednotlivých skupin: Jehňata A – 1,4 mg I•kg⁻¹ suš. KD; Jehňata B – 0,7 mg I•kg⁻¹ suš. KD; Jehňata K – 0,7 mg I•kg⁻¹ suš. KD. Příjem selenu u jednotlivých skupin: Jehňata A – 0,4 mg Se•kg⁻¹ suš. KD; Jehňata B – 0,4 mg Se•kg⁻¹ suš. KD; Jehňata K – 0,2 mg Se•kg⁻¹ suš. KD

5.1.3 Koncentrace jódu ve štítné žláze a proliferační aktivita folikulárního epitelu (PCNA) u jehňat

Koncentrace jódu ve štítné žláze odpovídaly příjmu jódu zvířaty. Nejvyšší průměrné koncentrace jódu ve štítné žláze dosáhla jehňata ve skupině A, která přijímala v krmné dávce 1,4 mg jódu. Skupiny B a K dosáhly totožné úrovně (tabulka 16). Rozdíly mezi skupinami nebyly statisticky významné díky vysoké variabilitě ve výsledcích u skupin B a K. Byla zjištěna pozitivní korelace ($r= 0,34$) mezi obsahem jódu v krmné dávce a koncentrací jódu ve štítné žláze. Dále byly pozorovány pozitivní korelace mezi koncentrací jódu ve štítné žláze a velikostními parametry (délka, šířka, plocha) folikulů a naopak negativní korelace mezi koncentrací jódu ve štítné žláze a výškou folikulárního epitelu (tabulka 15).

V proliferační aktivitě (PCNA) tyreocytů nebyly pozorovány statisticky významné rozdíly (tabulka 14). Byly zjištěny negativní korelace mezi proliferační aktivitou tyreocytů (PCNA) a zastoupením velkých a středních folikulů a pozitivní korelace mezi proliferační aktivitou tyreocytů a zastoupením malých folikulů (tabulka 15).

Tabulka 14 - Koncentrace jódu ve štítné žláze a proliferační aktivita tyreocytů (PCNA) u jehňat

	Jód ve štítné žláze ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)		PCNA	
	průměr	s_x	průměr	s_x
Jehňata A	1692,80	156,30	26,67	6,18
Jehňata B	1239,86	622,98	40,03	26,86
Jehňata K	1223,10	553,08	30,31	4,08

Příjem jódu u jednotlivých skupin: Jehňata A – 1,4 mg $\text{I}\cdot\text{kg}^{-1}$ suš. KD; Jehňata B – 0,7 mg $\text{I}\cdot\text{kg}^{-1}$ suš. KD; Jehňata K – 0,7 mg $\text{I}\cdot\text{kg}^{-1}$ suš. KD. Příjem selenu u jednotlivých skupin: Jehňata A – 0,4 mg $\text{Se}\cdot\text{kg}^{-1}$ suš. KD; Jehňata B – 0,4 mg $\text{Se}\cdot\text{kg}^{-1}$ suš. KD; Jehňata K – 0,2 mg $\text{Se}\cdot\text{kg}^{-1}$ suš. KD

Tabulka 15 - Korelace mezi koncentrací jódu ve štítné žláze a vybranými parametry štítné žlázy jehňat

Parametr		Korelační koeficient
Jód ve štítné žláze ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	Celková délka folikulů (μm)	0,20
Jód ve štítné žláze ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	Délka velkých folikulů (μm)	0,28
Jód ve štítné žláze ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	Celková šířka folikulů (μm)	0,28
Jód ve štítné žláze ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	Šířka velkých folikulů (μm)	0,56
Jód ve štítné žláze ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	Šířka středních folikulů (μm)	0,51
Jód ve štítné žláze ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	Plocha velkých folikulů (μm)	0,80
Jód ve štítné žláze ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	Celková výška epitelu (μm)	-0,45
Jód ve štítné žláze ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	Výška epitelu velkých folikulů (μm)	-0,30
Počet PCNA pozitivních buněk	Procento velkých folikulů (%)	-0,33
Počet PCNA pozitivních buněk	Procento středních folikulů (%)	-0,25
Počet PCNA pozitivních buněk	Procento malých folikulů (%)	0,28

5.1.4 Souhrn výsledků

Dopad vyššího příjmu jódu byl zjištěn ve zvýšení délky velkých folikulů. Navzdory předpokladu, že při zvýšení příjmu jódu dojde i ke zvětšení šířky folikulů, bylo u jehňat skupiny A zjištěno signifikantní snížení šířky velkých folikulů. Nebyl prokázán dopad diferencovaných dávek jódu na procentuální zastoupení jednotlivých velikostních kategorií folikulů jehňat. Kromě výšky tyreocytů v kategorii velkých folikulů vykazala skupina A nižší výšku folikulárního epitelu. Příjem jódu v dávce 0,7 a 1,4 mg na kg sušiny krmné dávky u skupiny A a B se výrazněji neprojevil na koncentraci jódu ve štítné žláze a proliferační aktivitě tyreocytů (PCNA).

U skupiny K, která v krmné dávce přijímala nižší koncentraci selenu (0,2 mg), bylo pozorováno, v porovnání s ostatními skupinami, výrazné zvýšení hmotnosti štítné žlázy a relativní hmotnosti štítné žlázy, snížení délky a šířky středních folikulů a zvýšení průměrné výšky folikulárních buněk i zvýšení výšky tyreocytů v kategorii středních a malých folikulů. Rozdíl nebyl pozorován v procentuálním zastoupení jednotlivých velikostních kategorií folikulů v koncentraci jódu ve štítné žláze či v proliferační aktivitě tyreocytů (PCNA).

Byly zjištěny pozitivní korelace mezi koncentrací jódu ve štítné žláze a rozměry folikulů (délka, šířka a plocha folikulů) a negativní korelace mezi koncentrací jódu ve štítné žláze a výškou tyreocytů.

5.2 Pokus č. 2 – Vliv dlouhodobého příjmu vysokých dávek jódu na morfometrické parametry štítné žlázy ovcí, jejich jehňat a jalových jehnic

5.2.1 Hmotnost a relativní hmotnost štítné žlázy bahnic a jehnic

U skupiny bahnic B byla zjištěna vyšší průměrná hmotnost štítné žlázy v porovnání se skupinou A. Hmotnost štítné žlázy u obou skupin ovcí (tabulka 16) byla vyšší, než uvádí Kratochvíl (1998), který uvádí průměrnou hmotnost 4,9 g u bahnic s normální histologickou stavbou. Vyšší hmotnost štítné žlázy 4-7 g udává Koch (1963) nebo Sova et al. (1990). Výrazně nižší hodnoty hmotnosti štítné žlázy ovcí (1,72 – 2,09 g) uvádí Bhardwaji et al. (2006). Relativní hmotnost štítné žlázy v obou skupinách bahnic dosáhla podobných hodnot, které uvádí Kratochvíl (1998) pro tuto kategorii zvířat s normální histologickou stavbou. Rozdíly mezi skupinami bahnic nebyly statisticky významné (tabulka 16). V tabulce 17 jsou uvedeny korelační závislosti mezi některými zjištěnými parametry ($P < 0,05$).

Hmotnosti štítné žlázy jehnic přibližně odpovídaly literárním údajům pro zvířata s normální strukturou štítné žlázy (Kratochvíl, 1998; Sova, 1971). Byl zjištěn signifikantní rozdíl ($P < 0,01$) v hmotnosti štítné žlázy mezi skupinami jehnic A a B. Statisticky významný rozdíl ($P < 0,05$) byl zjištěn i při porovnání skupin jehnic A a bahnic B. Oproti údajům, které udává Kratochvíl (1998) pro zvířata s normální histologickou stavbou štítné žlázy, vykázaly skupiny jehnic výrazně nižší hodnoty relativní hmotnosti štítné žlázy. Při porovnání relativních hmotností byly zjištěny statisticky významné rozdíly ($P < 0,05$) mezi skupinami bahnic a jehnic. Jehnice vykázaly o 55-67 % menší relativní hmotnost štítné žlázy v porovnání se skupinami bahnic. Nízká hodnota relativní hmotnosti štítné žlázy je zapříčiněna vysokou tělesnou hmotností zvířat.

Tabulka 16 - Hmotnost a relativní hmotnost štítné žlázy bahnic a jehnic

Skupina	Hmotnost štítné žlázy (g)		Relativní hmotnost (%)	
	průměr	s _x	průměr	s _x
Bahnice A	7,15	2,43	0,01567 ^a	0,0057
Bahnice B	9,67 ^b	4,72	0,01630 ^a	0,0075
Jehnice A	3,74 ^a	0,37	0,00543 ^b	0,0009
Jehnice B	5,10 ^c	1,12	0,00731 ^b	0,0019

^{a,b} P<0,05; ^{a,c} P<0,01

Příjem jódu u jednotlivých skupin: Bahnice A – 3 mg•kg⁻¹sušiny KD; Bahnice B – 5 mg•kg⁻¹sušiny KD; Jehnice A - 3 mg•kg⁻¹sušiny KD; Jehnice A - 5 mg•kg⁻¹ sušiny KD

Tabulka 17 - Korelační závislosti mezi některými sledovanými parametry bahnic a jehnic

Parametr		Korelační koeficient
Hmotnost štítné žlázy (g)	Procento velkých folikulů (%)	0,73
Hmotnost štítné žlázy (g)	Délka velkých folikulů (μm)	0,70
Hmotnost štítné žlázy (g)	Plocha velkých folikulů (μm ²)	0,77
Hmotnost štítné žlázy (g)	Výška epitelu velkých folikulů (μm)	-0,55
Relativní hmotnost štítné žlázy (%)	Průměrná délka folikulu (μm)	0,70
Průměrná délka folikulu (μm)	Průměrná výška epitelu (μm)	-0,45

5.2.2 Velikostní charakteristika folikulů a epitelu u bahnic a jehnic

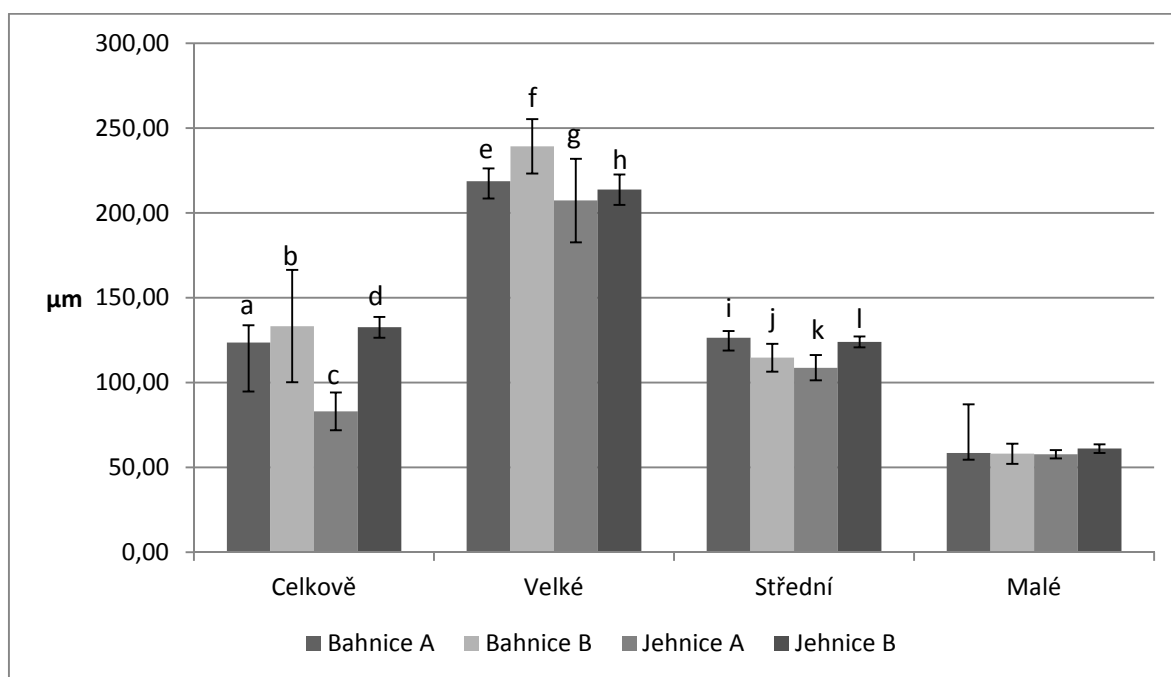
5.2.2.1 Délka, šířka a plocha folikulů bahnic a jehnic

Délka folikulů

Největší průměrné délky bez ohledu na velikostní kategorie (133,29±33,07 μm) dosáhly folikuly u bahnic skupiny B. Byl zjištěn statisticky významný rozdíl (P<0,05) při

porovnání se skupinou bahnic A. Nejmenší průměrná délka folikulů ($83,05 \pm 11,13 \mu\text{m}$) byla zjištěna u kategorie jehnic A, při porovnání se zbylými skupinami bahnic a jehnic byly zjištěny signifikantní rozdíly ($P < 0,05$; $P < 0,01$). V kategorii velkých folikulů byly nejdelší folikuly ($239,01 \pm 16,07 \mu\text{m}$) u bahnic skupiny A a ve srovnání s ostatními skupinami byly statisticky významně delší ($P < 0,05$; $P < 0,01$), graf 5. Byla zjištěna pozitivní korelace ($r = 0,45$) mezi délkou velkých folikulů a hmotností štítné žlázy. Největší délka středních folikulů byla zjištěna u skupin bahnic A a jehnic B, které se výrazně ($P < 0,05$; $P < 0,01$) odlišovaly od bahnic a jehnic zbývajících skupin. Celková délka folikulů (graf 5) odpovídá údajům Kratochvíla (1998), který udává rozsah délky folikulů u bahnic s normální histologickou stavbou štítné žlázy v rozsahu 103-145 μm .

Graf 5 – Délka folikulů bahnic a jehnic



a,b; a,d; e,f, j,l $P < 0,05$; b,c; c,d; f,g; f,h; i,j; i,k; k,l $P < 0,01$

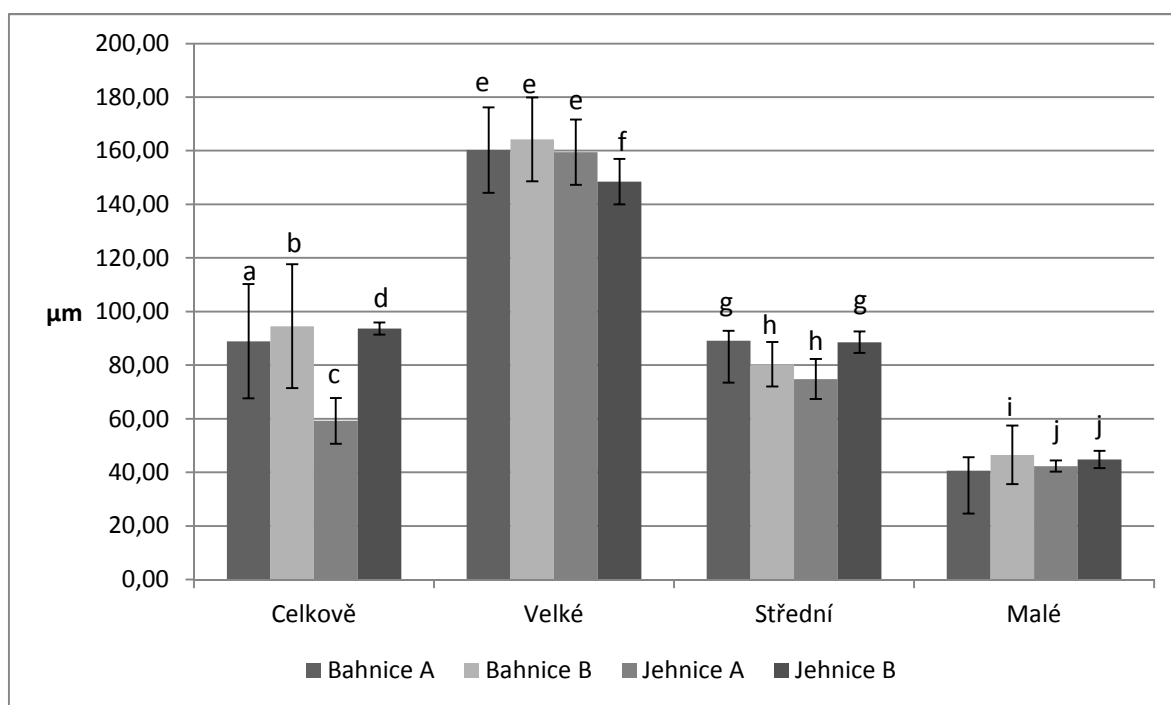
Příjem jódu u jednotlivých skupin: Bahnice A – $3 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ sušiny KD; Bahnice B – $5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ sušiny KD; Jehnice A – $3 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ sušiny KD; Jehnice B – $5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ sušiny KD

Šířka folikulů

Nejnižší průměrná šířka folikulů všech velikostních kategorií, která byla zjištěna u jehnic skupiny A se signifikantně lišila, jak od skupiny jehnic B, tak i od obou skupin bahnic ($P < 0,05$; $P < 0,01$). Statisticky významně nižší ($P < 0,05$) průměrná šířka ($148,45 \mu\text{m}$) u

kategorie velkých folikulů byla prokázána u skupiny jehnic B v porovnání s ostatními skupinami bahnic a jehnic. V kategorii středních folikulů byla největší šířka zjištěna u skupin bahnice A a jehnice B. Tyto skupiny se výrazně odlišovaly ($P < 0,05$) od skupin bahnice B a jehnice A. Největší šířka folikulů v kategorii malých folikulů byla u bahnic skupina B. Byly zjištěny signifikantní rozdíly ($P < 0,05$) mezi skupinami bahnice B a oběma skupinami jehnic (graf 6).

Graf 6 – Šířka folikulů bahnic a jehnic



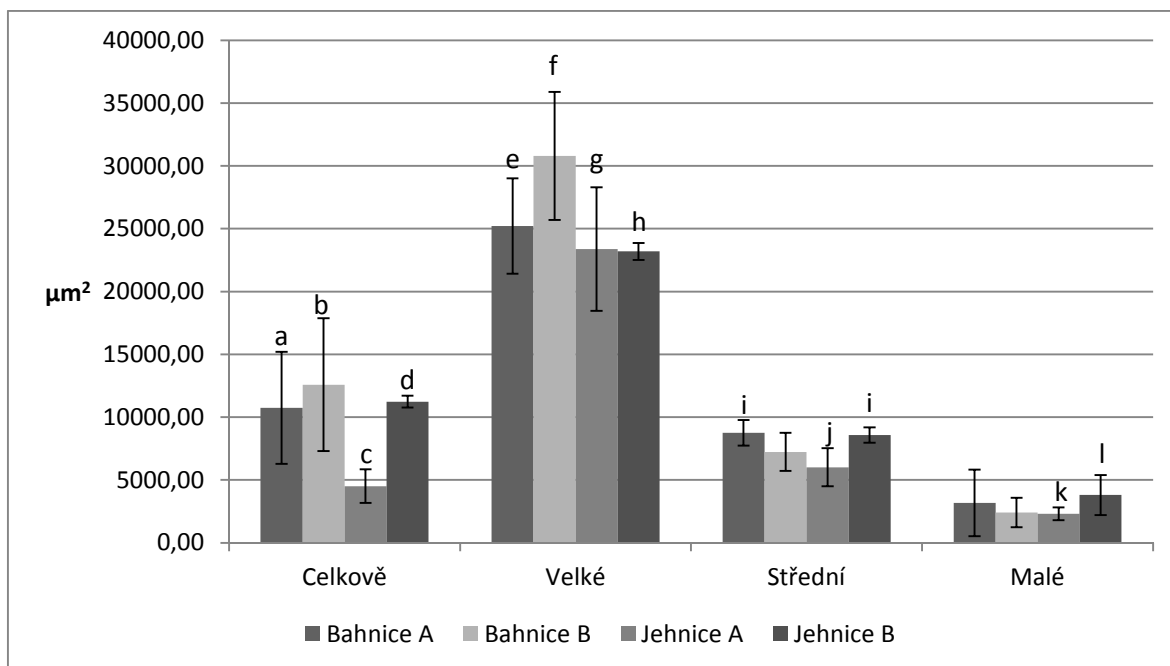
a,c; a,d, e,f; g,h; i,j $P < 0,05$; b,c; c,d $P < 0,01$

Příjem jódu u jednotlivých skupin: Bahnice A – $3 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ sušiny KD; Bahnice B – $5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ sušiny KD; Jehnice A - $3 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ sušiny KD; Jehnice A - $5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ sušiny KD

Plocha folikulů

Celkově nejmenší průměrná plocha folikulů byla zjištěna u skupiny jehnic A. Tato skupina se signifikantně ($P < 0,01$) lišila od ostatních skupin. Signifikantně ($P < 0,05$; $P < 0,01$) největší plocha velkých folikulů byla u skupiny bahnic B a to v porovnání se všemi zbývajícími skupinami. Nejmenší plocha středních folikulů byla prokázána u skupiny jehnic A, která se statisticky významně lišila od zbývajících skupin. Stejně tak i nejmenší plocha malých folikulů byla zjištěna u skupiny jehnic A, která se výrazně lišila ($P < 0,05$) od skupiny jehnic B (graf 7).

Graf 7 – Plocha folikulů bahnic a jehnic



ef; eh; ij; kl $P < 0,05$; ac; ad; cd; fg; fh $P < 0,01$

Příjem jódu u jednotlivých skupin: Bahnice A – $3 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ sušiny KD; Bahnice B – $5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ sušiny KD; Jehnice A – $3 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ sušiny KD; Jehnice B – $5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ sušiny KD

5.2.2.2 Procentuální zastoupení velikostních kategorií folikulů bahnic a jehnic

V tabulce 18 je uvedeno zastoupení jednotlivých velikostních kategorií folikulů. Bahnice B vykázaly nejvyšší zastoupení velkých folikulů. Nejnižší zastoupení velkých folikulů bylo zjištěno u skupiny bahnic A. Skupiny jehnic vykázaly přibližně stejné zastoupení, jako skupina bahnic B. Mezi skupinami nebyly prokázány statistické rozdíly. V zastoupení středních folikulů byly zjištěny výraznější rozdíly, než tomu bylo v případě velkých folikulů. Výrazně nižší zastoupení ($P < 0,05$) středních folikulů bylo v porovnání se zbývajícím skupinami zjištěno u skupiny jehnic A. Zastoupení malých folikulů u skupin jehnic bylo odlišné než u bahnic. Byl zjištěn signifikantní rozdíl ($P < 0,05$) mezi skupinami jehnic A a B.

Tabulka 18 - Procentuální zastoupení jednotlivých velikostních kategorií folikulů bahnic a jehnic

	Velké		Střední		Malé	
	(%)		(%)		(%)	
	průměr	s _x	průměr	s _x	průměr	s _x
Bahnice A	19,67	15,83	49,17 ^b	15,24	31,17	17,16
Bahnice B	28,89	17,30	39,60 ^b	9,89	31,51	18,97
Jehnice A	24,28	1,42	16,56 ^a	8,40	44,38 ^b	9,65
Jehnice B	24,37	2,19	54,37 ^b	5,61	21,27 ^a	7,72

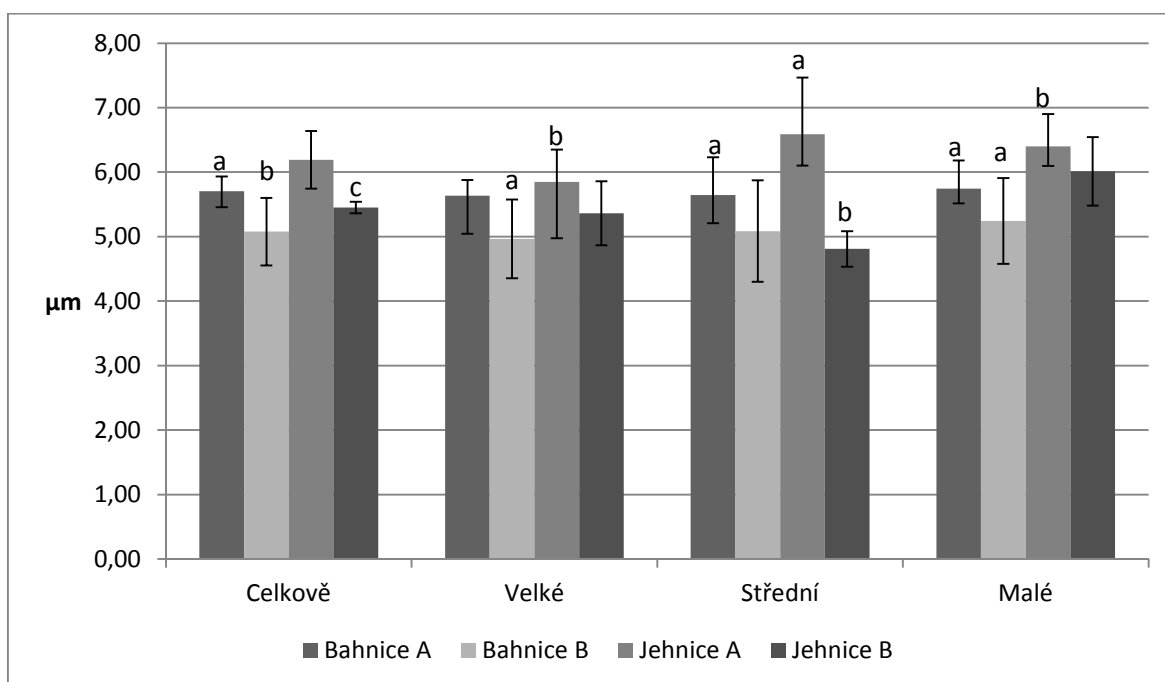
^{a,b} P<0,05

Příjem jódu u jednotlivých skupin: Bahnice A – 3 mg•kg⁻¹sušiny KD; Bahnice B – 5 mg•kg⁻¹sušiny KD; Jehnice A - 3 mg•kg⁻¹sušiny KD; Jehnice B - 5 mg•kg⁻¹ sušiny KD

5.2.2.3 Výška folikulárního epitelu bahnic a jehnic

Ve všech velikostních kategoriích folikulů štítné žlázy bahnic i jehnic skupin A byly zjištěny vyšší tyreocyty v porovnání s bahnicemi i jehnicemi skupin B (graf 8). Kromě středních folikulů byla výška tyreocytů v ostatních folikulech vždy vyšší u jehnic ve srovnání s bahnicemi se stejným příjmem jodu. Signifikantní rozdíly (P<0,05) byly zjištěny v průměrné velikosti tyreocytů. Výška folikulárního epitelu sledovaných ovcí o 32,7 res. 42,1 % nižší než uvádí Kratochvíl (1998). U všech velikostních kategorií folikulů dosáhla výška folikulárního epitelu u skupiny jehnic A vždy největší hodnoty a skupina jehnic A se statisticky významně (P<0,05) odlišovala od skupin bahnic (graf 8).

Graf 8 – Výška epitelu bahnic a jehnic



a,b; b,c; a,c $P < 0,05$

Příjem jódu u jednotlivých skupin: Bahnice A – $3 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ sušiny KD; Bahnice B – $5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ sušiny KD; Jehnice A – $3 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ sušiny KD; Jehnice B – $5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ sušiny KD

5.2.3 Koncentrace jódu ve štítné žláze a proliferační aktivita folikulárního epitelu (PCNA) bahnic a jehnic

Koncentrace jódu ve štítné žláze bahnic skupiny A i B byla o 57 a 69 % vyšší ($P < 0,01$) než u skupin jehnic se stejným příjmem jódu. Rozdíly mezi skupinami bahnic nebo jehnic nebyly zjištěny. Nejvyšší hodnoty proliferační aktivity tyreocytů byly zaznamenány u skupiny jehnic A, která se výrazně ($P < 0,01$) lišila od zbývajících pokusných skupin (tabulka 19). Vyšší hodnoty proliferační aktivity (PCNA) i koncentrace jódu ve štítné žláze byly zaznamenány u skupiny bahnic B, rozdíly však nebyly statisticky průkazné. V tabulce 20 jsou uvedeny korelační závislosti mezi vybranými parametry.

Tabulka 19 - Koncentrace jódu ve štítné žláze a proliferační aktivita folikulárního epitelu bahnic a jehnic

	Jód ve štítné žláze ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)		PCNA	
	průměr	s_x	průměr	s_x
Bahnice A	1159,40 ^a	382,22	3,22 ^b	2,28
Bahnice B	1252,43 ^a	400,02	4,84 ^b	2,49
Jehnice A	396,16 ^b	192,50	16,33 ^a	6,55
Jehnice B	501,36 ^b	270,03	6,33 ^b	1,70

^{a,b} $P < 0,01$

Příjem jódu u jednotlivých skupin: Bahnice A – $3 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ sušiny KD; Bahnice B – $5 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ sušiny KD; Jehnice A – $3 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ sušiny KD; Jehnice B – $5 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ sušiny KD

Tabulka 20 - Korelační závislosti mezi některými parametry

Parametr	Korelační koeficient
Počet PCNA pozitivních buněk Epitel v malých folikulech (μm)	0,56
Počet PCNA pozitivních buněk Procento velkých folikulů (%)	-0,47
Počet PCNA pozitivních buněk Procento malých folikulů (%)	0,45
Obsah jódu ve štítné žláze ($\mu\text{g}/\text{g}$) Hmotnost štítné žlázy (g)	-0,35
Počet PCNA pozitivních buněk Průměrná délka folikulů (μm)	-0,49

5.2.4 Histologické vyšetření

Bahnice

U většiny bahnic ze skupiny A se v převaze vyskytovaly velké a střední folikuly s homogenním koloidem bez resorpčních vakuol. Velké folikuly byly vystlány nízcí kubickým až plochým epitelem. U jedné bahnice se vyskytla v oblasti hilu objemná cysta vystlaná dlaždicovitým rohovějícím epitelem. U dalších dvou bahnic se vyskytoval heterotopický thymus. U jedné z těchto bahnic byla v obou lalocích zjištěna ložiska akumulace lymfocytů v intersticiu bez známek alterace tkáně thyroidey.

U bahnic B, které přijímaly v krmné dávce 5 mg jódu, byly přítomny zejména střední a malé folikuly, nejméně bylo přítomno velkých folikulů. Folikuly byly vyplněny homogenním koloidem u většiny případů bez přítomnosti resorpčních vakuol. Folikulární epitel byl kubický, v některých případech ve velkých folikulech byly zjištěny nízcí kubické popřípadě vysoce kubické tyreocyty ve středních a malých folikulech. V jednom případě se u bahnice vyskytl heterotopický thymus a v jeho sousedství susp. adenom z C buněk.

Jehnice

U obou skupin jehnic byl zjištěn ve folikulech homogenní koloid s ojedinělými resorpčními vakuolami. Folikulární epitel byl kubický. U zvířat s příjmem 3mg jódu převažovaly střední a malé folikuly, u jehnic s příjmem 5 mg byly pozorovány zejména velké a střední folikuly. U všech jehnic byla zjištěna přítomnost cyst různých velikostí (jedné či několika) v jednom či obou lalocích štítné žlázy a to v různých oblastech thyroidey (zejména v centrální části řezu). U jedné jehnice se vyskytovala drobná diseminovaná ložiska tyreocytů a u jedné jehnice se vyskytovaly tyreocyty se známkami apoptózy.

5.2.5 Parametry štítné žlázy jehňat – pokus č. 2

5.2.5.1 Hmotnost a relativní hmotnost štítné žlázy jehňat

U skupiny jehňat D pocházejících ze skupiny bahnic B, která přijímala 5 mg I, byla zjištěna nižší hmotnost štítné žlázy ($P=0,15$) v porovnání se skupinou C. Průměrná relativní hmotnost štítné žlázy se mezi oběma skupinami jehňat nelišila (tabulka 21). V porovnání s výsledky Krabačové (2002) byla zjištěna vyšší hmotnost u obou sledovaných skupin, relativní hmotnost štítné žlázy přibližně odpovídala hodnotám, které uvádí autorka. Autorka uvádí pro pokusná jehňata přijímající v krmné dávce 0,25 mg jódu a 0,25 mg selenu na kg sušiny KD hodnoty mezi 0,9 – 1,9 g a relativní hmotnost štítné žlázy mezi 0,010-0,027 %.

Tabulka 21 - Parametry štítné žlázy jehňat

	Hmotnost štítné žlázy (g)		Relativní hmotnost (%)	
	průměr	s _x	průměr	s _x
Jehňata C	2,74 ^a	0,40	0,01163	0,00143
Jehňata D	2,31 ^b	0,49	0,00954	0,00111

^{a,b} P=0,15

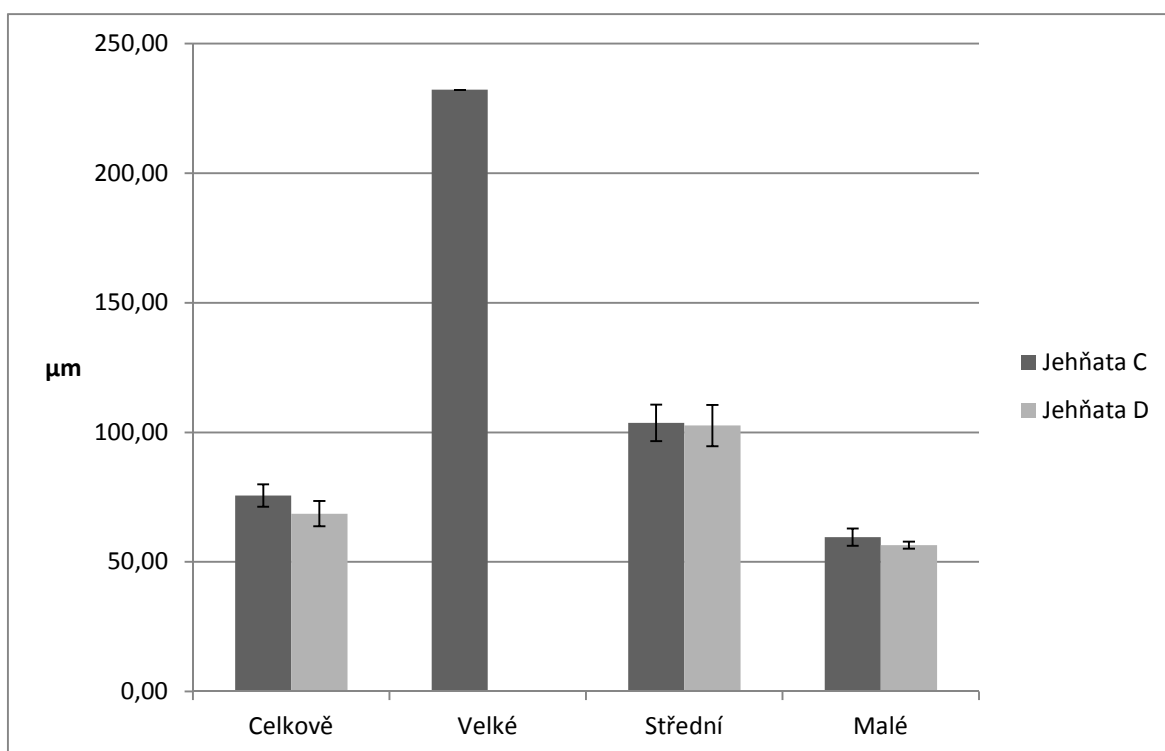
Příjem jódu u jednotlivých skupin: Jehňata C – 3 mg•kg⁻¹ sušiny KD; Jehňata D – 5 mg•kg⁻¹ sušiny KD

5.2.5.2 Velikostní parametry folikulů a epitelu jehňat

5.2.5.2.1 Délka, šířka a plocha folikulů jehňat

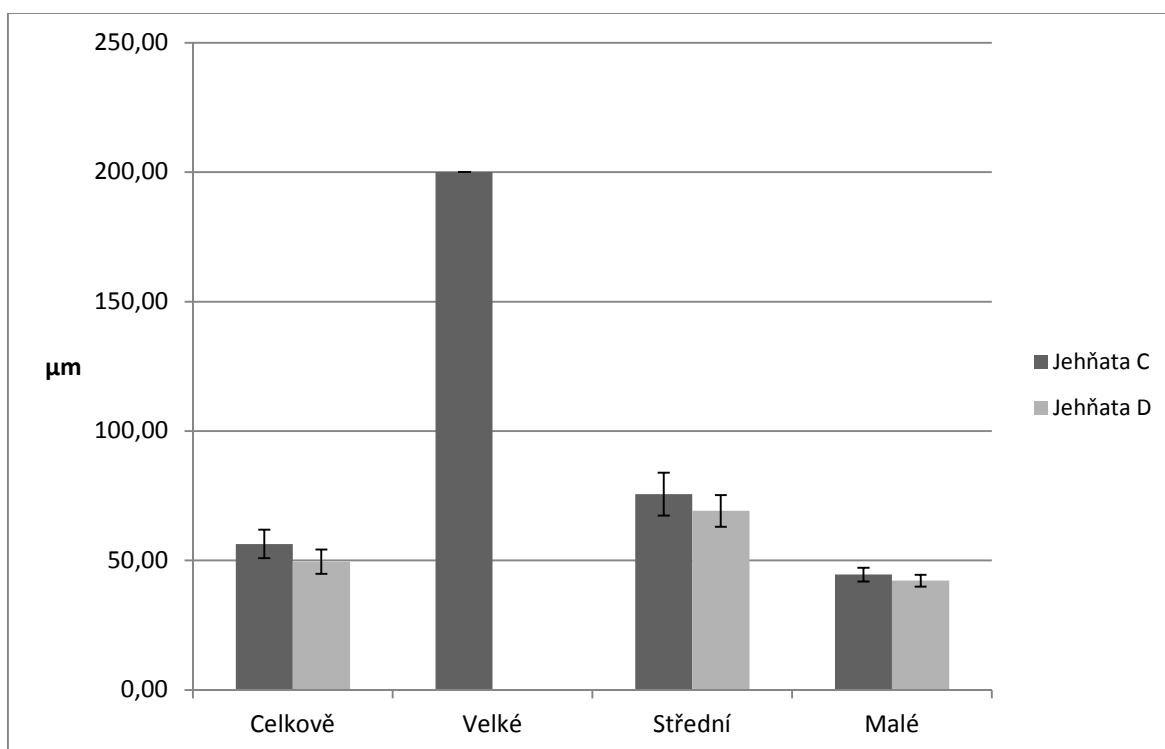
Při statistické analýze nebyly mezi skupinami zjištěny statistické rozdíly ani u jednoho ze sledovaných parametrů. Neprůkazně větší rozměry (délka, šířka) a plochu folikulů vykazovala skupina jehňat C, tedy u jehňat po bahnicích přijímajících v krmné dávce menší dávku jódu (3 mg I•kg⁻¹ sušiny KD) (graf 9; graf 10; graf 11). V porovnání s údaji Krabačové (2002) byly rozměry (délka, šířka) folikulů výrazně menší, než uvádí autorka pro jehňata s denním příjmem 0,25 mg jódu a 0,25 mg selenu (99,90±51,69 μm). Naopak v porovnání s Kóňovou (1999a), která uvádí délku folikulů pro jehňata s příjmem 1,5 mg na kg sušiny KD hodnotu 70,89±1,54 μm, vykazovala jehňata A větší délku folikulů (o 7,14 %) a naopak jehňata B nepatrně menší celkovou délku folikulů.

Graf 9 - Délka folikulů jehňat



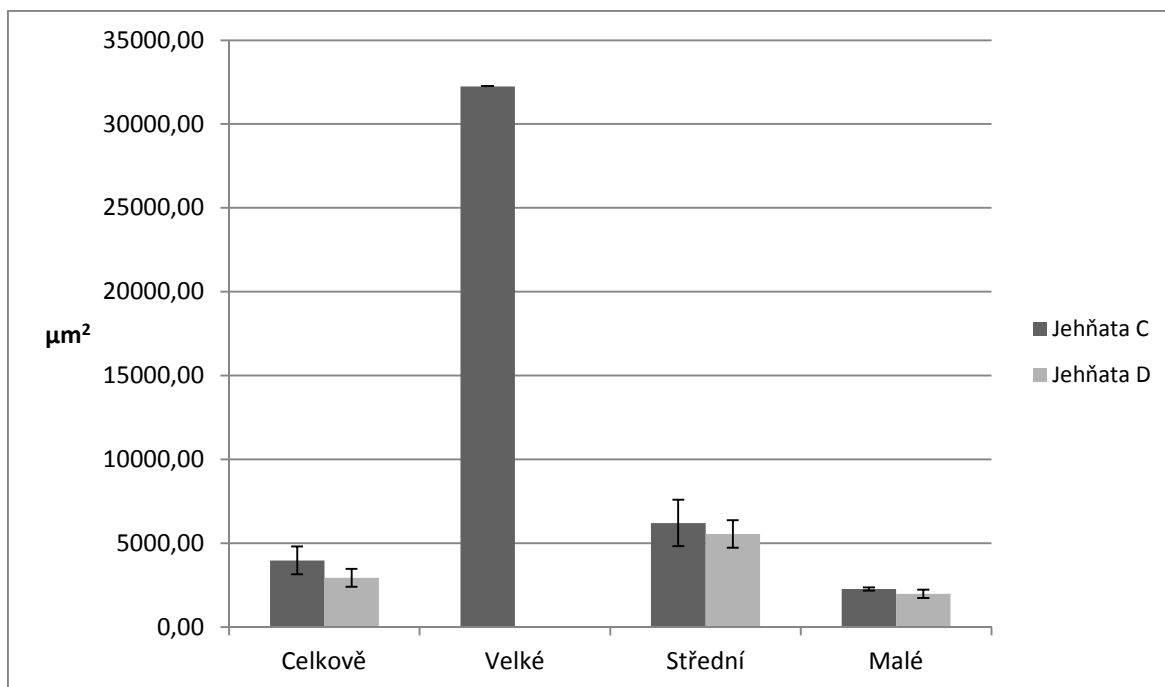
Příjem jódu u jednotlivých skupin: Jehňata C – 3 mg•kg⁻¹ sušiny KD; Jehňata D – 5 mg•kg⁻¹ sušiny KD

Graf 10 – Šířka folikulů jehňat



Příjem jódu u jednotlivých skupin: Jehňata C – 3 mg•kg⁻¹ sušiny KD; Jehňata D – 5 mg•kg⁻¹ sušiny KD

Graf 11 – Plocha folikulů jehňat

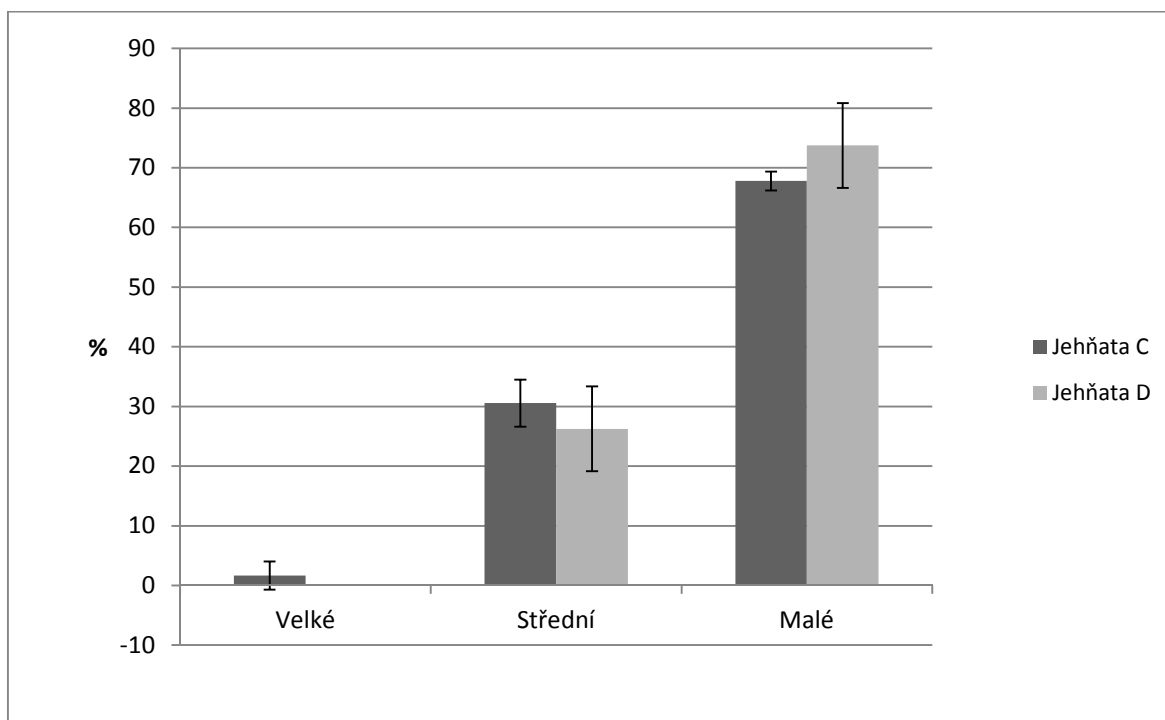


Příjem jódu u jednotlivých skupin: Jehňata C – 3 mg/kg sušiny KD; Jehňata D – 5 mg/kg sušiny KD

5.2.5.2.2 Procentuální zastoupení jednotlivých velikostních kategorií folikulů jehňat

Procentuální zastoupení jednotlivých velikostních kategorií se mezi sledovanými skupinami jehňat C a D statisticky nelišilo (graf 12). V porovnání s údaji Kóňové et al. (1999b) bylo u obou pozorovaných skupin sledováno nižší zastoupení středních folikulů a naopak vyšší zastoupení malých folikulů, než které autorka zjistila u jehňat, která přijímala 1,5 mg jódu na kg sušiny krmné dávky. Autorka uvádí, že se zastoupení středních folikulů pohybuje mezi 30 a 40 % a zastoupení malých folikulů mezi 58 a 65%.

Graf 12 - Procentuální zastoupení jednotlivých velikostních kategorií folikulů jehňat

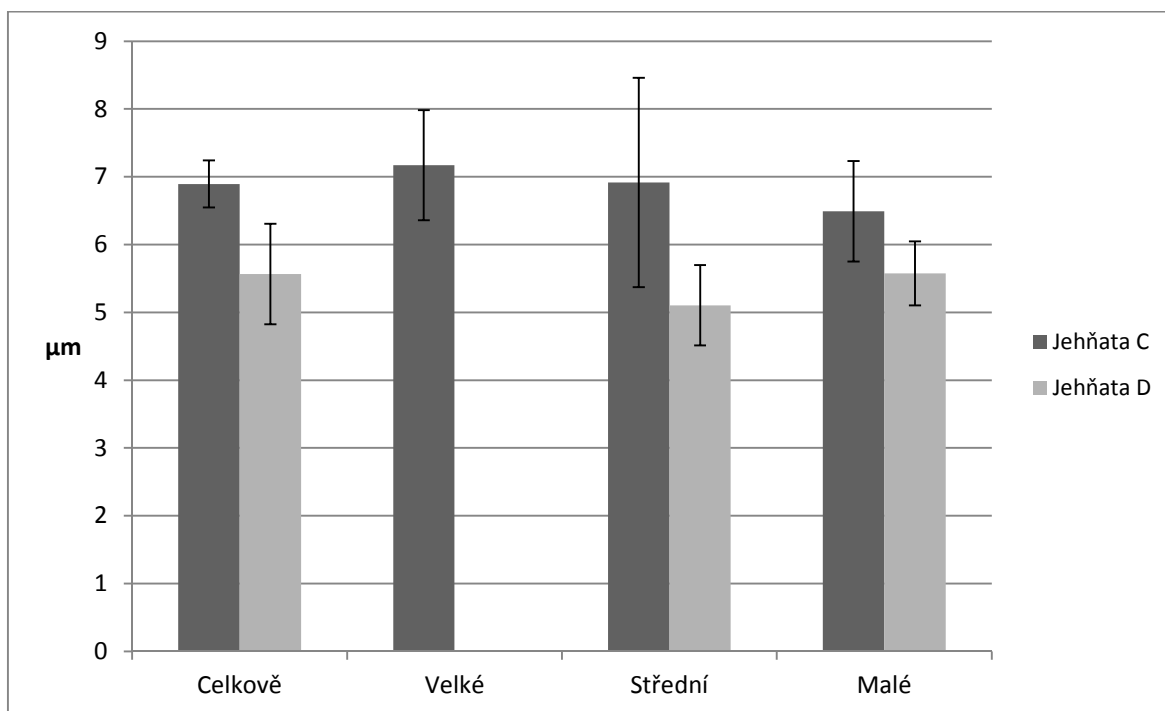


Příjem jódu u jednotlivých skupin: Jehňata C – $3 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ sušiny KD; Jehňata D – $5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ sušiny KD

5.2.5.2.3 Výška epitelu jehňat

V průměrné výšce tyreocytů a ani ve výšce tyreocytů v jednotlivých velikostních kategoriích folikulů nebyly mezi skupinami jehňat C a D statisticky významné odlišnosti. Neprůkazně vyšší hodnoty byly u jehňat skupiny C, tedy u jehňat, jejichž matky byly během pokusu zatíženy menší dávkou jódu ($3 \text{ mg I} \cdot \text{kg}^{-1}$ sušiny krmné dávky) (graf 13). Průměrná výška epitelu u obou skupin jehňat odpovídala údajům zjištěných Krabačovou (2002), které autorka zjistila u jehňat s příjmem $0,25 \text{ mg}$ jódu $0,25 \text{ mg}$ selenu. V porovnání s výsledky Kóňové (1999a) byly zjištěny u obou sledovaných skupin jehňat C a D výrazně vyšší tyreocyty. Autorka uvádí ve své práci výšku tyreocytů u jehňat, která přijímala $1,5 \text{ mg I} \cdot \text{kg}^{-1}$ sušiny krmné dávky, mezi $2,8 - 2,9 \mu\text{m}$.

Graf 13 – Výška epitelu jehňat



Příjem jódu u jednotlivých skupin: Jehňata C – 3 mg•kg⁻¹ sušiny KD; Jehňata D – 5 mg•kg⁻¹ sušiny KD

5.2.5.3 Proliferační aktivita folikulárního epitelu (PCNA) štítné žlázy jehňat

Proliferační aktivita tyreocytů se mezi skupinami jehňat C a D statisticky nelišila (tabulka 22). Byly zjištěny negativní korelace mezi proliferační aktivitou folikulárního epitelu (PCNA), procentem velkých folikulů a délkou malých folikulů, a pozitivní korelace mezi proliferační aktivitou folikulárního epitelu (PCNA) průměrnou výškou epitelu a výškou epitelu ve středních a malých folikulech (tabulka 23).

Tabulka 22 - Proliferační aktivita folikulárního epitelu (PCNA) štítné žlázy jehňat

	PCNA	
	průměr	S _x
Jehňata C	32,33	17,13
Jehňata D	29,25	16,08

Příjem jódu u jednotlivých skupin: Jehňata C – 3 mg•kg⁻¹ sušiny KD; Jehňata D – 5 mg•kg⁻¹ sušiny KD

Tabulka 23 - Korelační závislost mezi vybranými parametry

	Parametr	Korelační koeficient
Počet PCNA pozitivních buněk	Procento velkých folikulů (%)	-0,14
Počet PCNA pozitivních buněk	Délka malých folikulů (μm)	-0,47
Počet PCNA pozitivních buněk	Průměrná výška epitelu (μm)	0,39
Počet PCNA pozitivních buněk	Výška epitelu středních folikulů (μm)	0,64
Počet PCNA pozitivních buněk	Výška epitelu malých folikulů (μm)	0,49

5.2.5.4 Histologické vyšetření

U jehňat skupiny A převažovaly ve štítné žláze malé a střední folikuly vystlané kubickým epitelem a vyplněné homogenním koloidem s ojedinělým výskytem resorpčních vakuol. Ve dvou případech se u jehňat vyskytovala solidní ložiska tyreocytů diseminovaná mezi folikuly. U všech jehňat byly přítomny v obou lalocích cysty (jedna či několik) vystlané dlaždicovitým nerohovějícím či rohovějícím epitelem. U jednoho jehněte se v lumenu folikulů nacházely deskvamované epiteliální buňky a neutrofilny. V jednom případě se u jehněte vyskytla část folikulů s menšími tyreocyty obsahujícími pyknotické jádro a homogenní eosinofilní cytoplazmu.

U skupiny jehňat B byly zjištěny v převaze malé a střední folikuly. Folikulární epitel byl převážně kubický, ve středních a malých folikulech vysoce kubický. Koloid byl homogenní s ojedinělým výskytem resorpčních vakuol. Kromě jednoho případu byly u všech jehňat zjištěny různě veliké cysty (jedna, několik či ve skupinkách) v různých místech řezu v jednom či obou lalocích štítné žlázy. U dvou jehňat byla zjištěna solidní ložiska či čepy tyreocytů.

5.2.6 Souhrn výsledků

Vyšší hmotnosti štítné žlázy vykázaly skupiny bahnic a jehnic, které přijímaly v krmné dávce větší množství jódu. V porovnání s literárními údaji dosáhla štítná žláza u všech sledovaných skupin bahnic a jehnic vyšší hmotnosti. Byla zjištěna pozitivní korelace mezi hmotností štítné žlázy a procentem velkých folikulů či délkou velkých folikulů a negativní korelace mezi hmotností štítné žlázy a výškou epitelu ve velkých folikulech. Skupiny bahnic a jehnic s nižším příjmem jódu vykázaly menší rozměrové parametry folikulů (délka, šířka a plocha folikulů). Zjištěné průměrné hodnoty délky folikulů dosahovaly přibližně hodnot uváděných v literatuře. Procentuální zastoupení jednotlivých velikostních kategorií folikulů dosahovalo u všech skupin podobné úrovně. Výjimkou bylo zastoupení středních folikulů u skupiny jehnic A, která vykázala výrazně nižší hodnoty v porovnání se zbylými skupinami a zároveň výrazně vyšší zastoupení malých folikulů v porovnání se skupinou B. U skupin bahnic a jehnic s nižším příjmem jódu byly pozorovány vyšší folikulární buňky u všech velikostních kategorií folikulů a v průměru. V porovnání s literárními údaji vykázaly všechny sledované skupiny výrazně nižší výšky folikulárního epitelu. Obě skupiny bahnic vykázaly statisticky vyšší koncentrace jódu ve štítné žláze v porovnání se skupinami jehnic. Naopak u skupin jehnic byl zaznamenán vyšší počet PCNA pozitivních tyreocytů. Byly zjištěny pozitivní korelace mezi počtem PCNA pozitivních tyreocytů a výškou epitelu v malých folikulech a procentem malých folikulů, a negativní korelace mezi počtem PCNA pozitivních tyreocytů průměrnou délkou folikulů a procentem velkých folikulů.

Hmotnost štítné žlázy jehňat u obou skupin dosáhla výrazně vyšších hodnot v porovnání s literárními údaji. U jehňat pocházejících ze skupiny bahnic s vyšším příjmem jódu byla zjištěna výrazně vyšší hmotnost štítné žlázy. Mezi oběma skupinami jehňat nebyly zaznamenány prokazatelné rozdíly v rozměrových parametrech folikulů (délka, šířka a plocha folikulů). V porovnání s literárními údaji vykázala jehňata z obou skupin výrazně vyšší průměrné délky folikulů. Příjem diferencovaných dávek jódu se u jehňat neodrazil ani v procentuálním zastoupení jednotlivých velikostních kategorií folikulů. Stejně tak nebyly pozorovány rozdíly ve výšce folikulárního epitelu a v proliferační aktivitě (PCNA) tyreocytů.

5.3 Pokus č. 3- Vliv příjmu vysokých dávek jódu a strumigenních látek na morfometrické parametry štítné žlázy jehnic

5.3.1 Hmotnost a relativní hmotnost štítné žlázy jehnic

Mezi skupinami jehnic C a D nebyl pozorován statisticky významný rozdíl v hmotnosti a relativní hmotnosti štítné žlázy (tabulka 24). V tabulce uvedené hodnoty hmotnosti štítné žlázy odpovídají nálezům Sovy (1990) a Kratochvíla (1998) u ovcí s normální strukturou štítné žlázy. U jehnic, které přijímaly $10 \text{ mg I} \cdot \text{kg}^{-1}$ sušiny KD a strumigenní látky (skupina D) nebyly žádné projevy strumy a ani jiné odchylky v histologické stavbě, které v experimentech s příjmem strumigenů (dusičnanů a glukosinolátů) zjistil například Kursá et al. (2000). Ani na hmotnosti štítné žlázy se efekt strumigenů neprojevil stejně tak, jak uvádí Trávníček et al. (2001). Na rozdíl od Deryckeho et al. (1999), který sledoval vliv podávání řepkového extrahovaného šrotu vykrmovaným jehňatům, nebyl pozorován dopad na zvýšení hmotnosti štítné žlázy pokusné skupiny jehnic.

Tabulka 24 - Hmotnost a relativní hmotnost štítné žlázy

	Hmotnost štítné žlázy		Relativní hmotnost	
	(g)		(%)	
	průměr	s_x	průměr	s_x
Jehnice C	4,89	0,79	0,01081	0,00175
Jehnice D	4,60	1,10	0,01096	0,00263

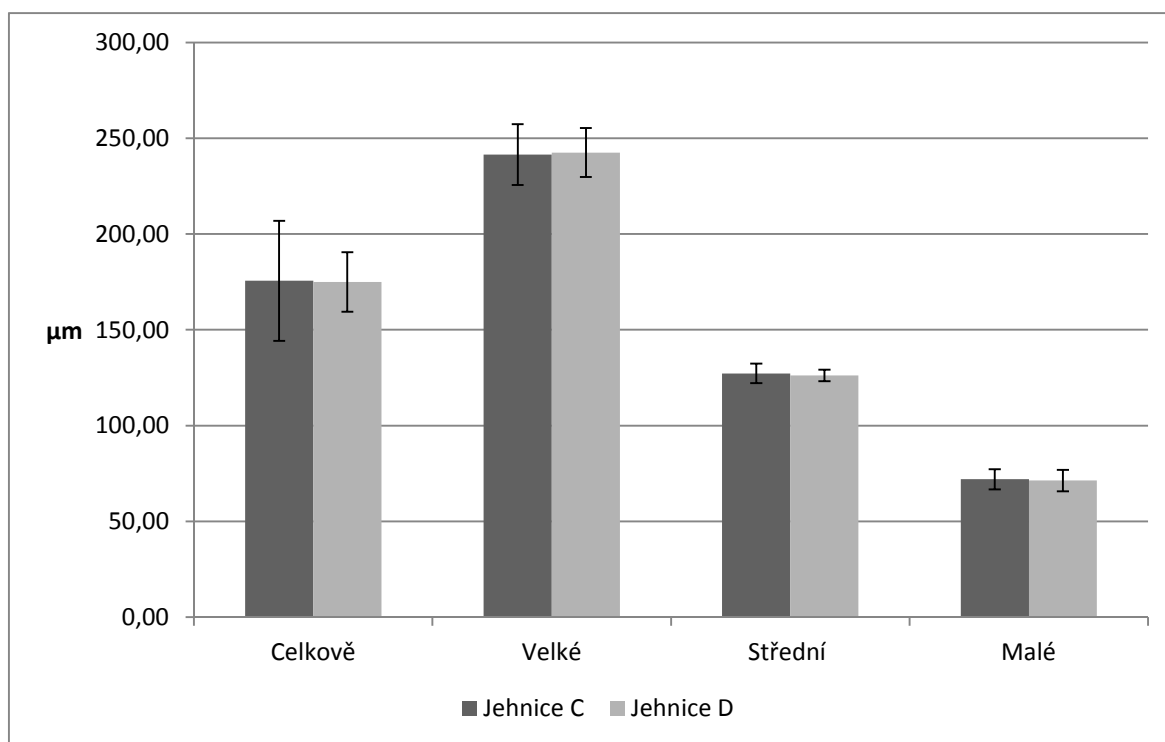
Příjem jódu u jednotlivých skupin: Jehnice C – $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ sušiny KD; Jehnice D $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ sušiny KD (součástí KD byly i strumigenní látky – řepkový extrahovaný šrot, dusičnan sodný- $1 \text{ g} \cdot \text{ks}^{-1}$ a den)

5.3.2 Velikostní charakteristiky folikulů štítné žlázy a folikulárního epitelu jehnic

5.3.2.1 Délka, šířka a plocha folikulů jehnic

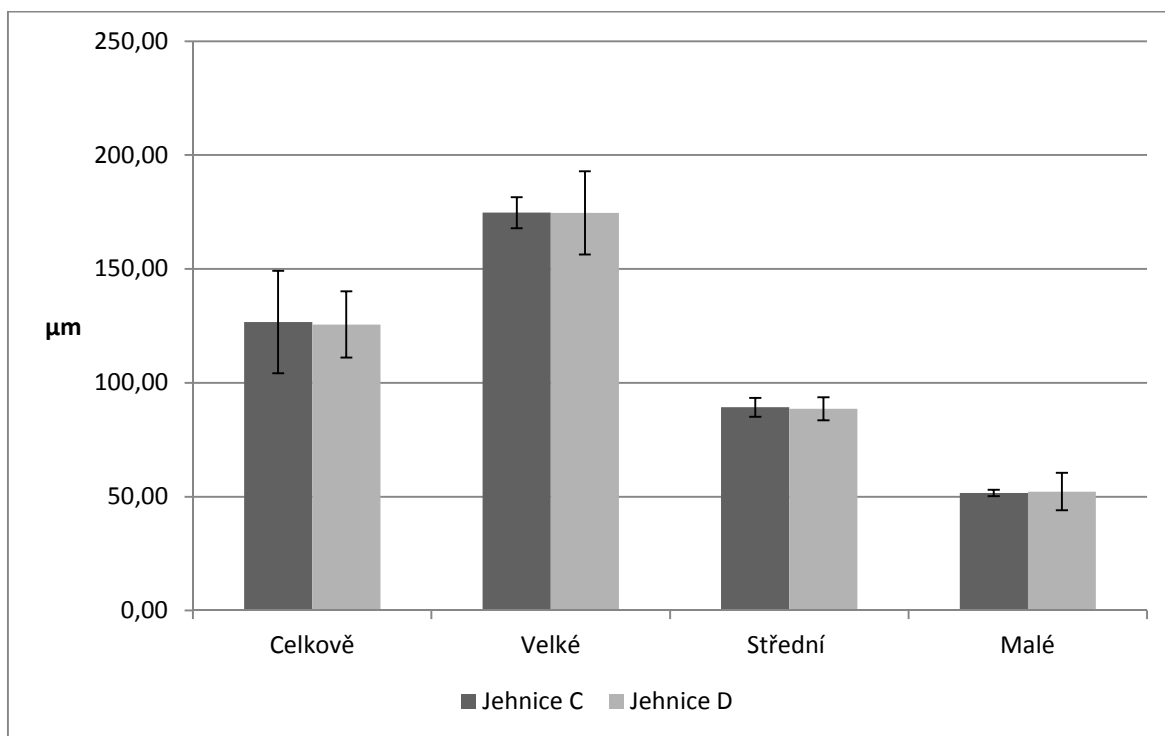
Při porovnání velikostních parametrů (délka, šířka a plocha) folikulů štítné žlázy u jehnic skupin C a D nebyly zjištěny statisticky významné rozdíly (graf 14; graf 15; graf 16). Shodnost výsledků u obou skupin lze dokladovat faktem, že v průměrné délce a ani v délce jednotlivých velikostních kategorií folikulů nepřesáhl rozdíl 1 μm . Podobně homogenní byly i výsledky u šířky a plochy folikulů. Průměrná délka a šířka folikulů výrazně převyšovala hodnoty, které uvádí Kratochvíl (1998) pro bahnice stejné hmotnostní kategorie s normálním histologickým obrazem štítné žlázy.

Graf 14 – Délka folikulů jehnic



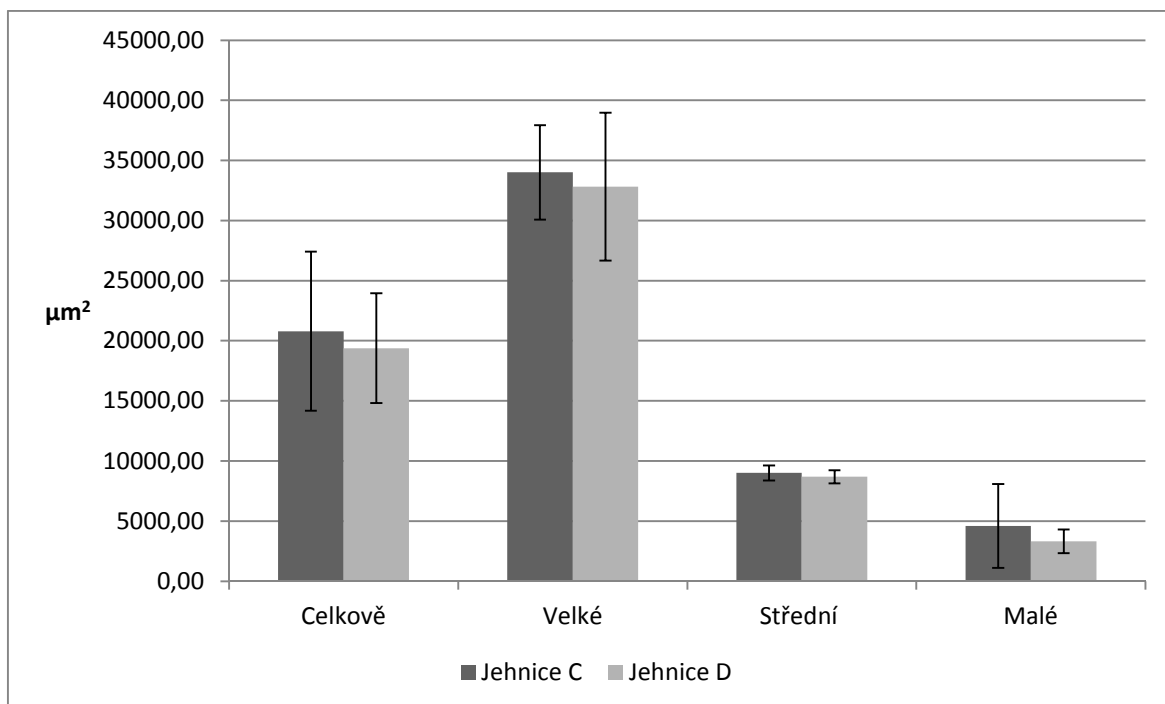
Příjem jódu u jednotlivých skupin: Jehnice C – 10 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ sušiny KD; Jehnice D 10 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ sušiny KD (součástí KD byly i strumigenní látky – řepkový extrahovaný šrot, dusičnan sodný- 1 $\text{g}\cdot\text{ks}^{-1}$ a den)

Graf 15 – Šířka folikulů jehnic



Příjem jódu u jednotlivých skupin: Jehnice C – $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ sušiny KD; Jehnice D $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ sušiny KD (součástí KD byly i strumigenní látky – řepkový extrahovaný šrot, dusičnan sodný- $1 \text{ g} \cdot \text{ks}^{-1}$ a den)

Graf 16 – Plocha folikulů jehnic



Příjem jódu u jednotlivých skupin: Jehnice C – $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ sušiny KD; Jehnice D $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ sušiny KD (součástí KD byly i strumigenní látky – řepkový extrahovaný šrot, dusičnan sodný- $1 \text{ g} \cdot \text{ks}^{-1}$ a den)

5.3.2.2 Procentuální zastoupení jednotlivých velikostních kategorií folikulů štítné žlázy jehnic

V tabulce 25 je uvedeno procentuální zastoupení jednotlivých velikostních kategorií folikulů. Mezi skupinami nebyl zjištěn statisticky významný rozdíl. V naprosté převaze se u sledovaných zvířat vyskytovaly velké a střední folikuly.

Tabulka 25 - Procentuální zastoupení jednotlivých velikostních kategorií folikulů jehnic

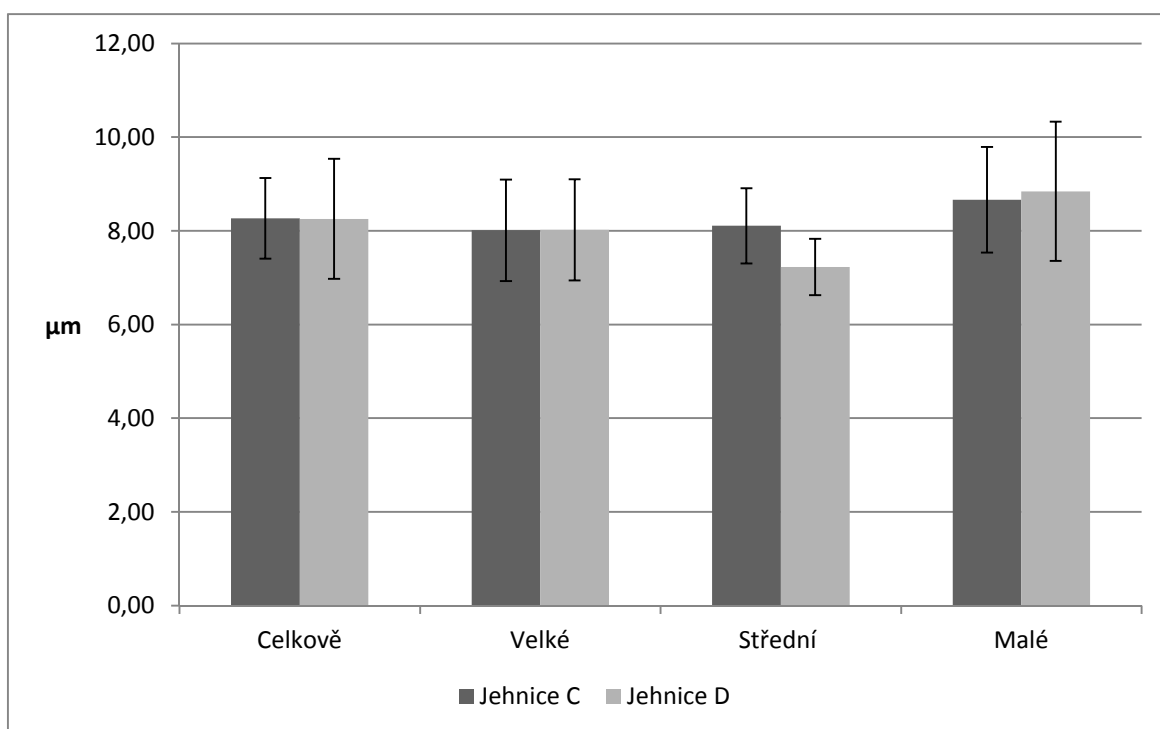
	Velké (%)		Střední (%)		Malé (%)	
	průměr	s _x	průměr	s _x	průměr	s _x
Jehnice C	46,21	18,23	44,69	12,37	9,11	7,74
Jehnice D	43,75	9,88	50,69	9,71	5,56	4,09

Příjem jódu u jednotlivých skupin: Jehnice C – 10 mg•kg⁻¹ sušiny KD; Jehnice D 10 mg•kg⁻¹sušiny KD (součástí KD byly i strumigenní látky – řepkový extrahovaný šrot, dusičnan sodný- 1 g•ks⁻¹ a den)

5.3.2.3 Výška folikulárního epitelu jehnic

Stejně jako v případě délky, šířky a plochy folikulů byla výška folikulárního epitelu celkově i u jednotlivých velikostních kategorií velice homogenní. Výška folikulárního epitelu se u obou skupin v průměru i u všech sledovaných velikostních kategorií pohybovala na stejné úrovni (7,23-8,84 μm). Nevýznamně nižší výška epitelu byla pozorována v kategorii středních folikulů u skupiny jehnic D (graf 17). V porovnání s údaji Kratochvíla (1998) byla průměrná výška tyreocytů nepatrně nižší než autor uvádí pro bahnice s normálním histologickým obrazem (8,48±1,64; 8,79±1,7 μm). Širší rozpětí výšky tyreocytů 5,87-8,51 μm u jalových bahnic uvádí Salem et al. (1986).

Graf 17 – Výška folikulárního epitelu jehnic



Příjem jódu u jednotlivých skupin: Jehnice C – $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ sušiny KD; Jehnice D $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ sušiny KD (součástí KD byly i strumigenní látky – řepkový extrahovaný šrot, dusičnan sodný- $1 \text{ g} \cdot \text{ks}^{-1}$ a den)

5.3.3 Koncentrace jódu ve štítné žláze a proliferační aktivita folikulárního epitelu jehnic

Obdobně jako u ostatních parametrů nebyl prokázán mezi skupinami C a D statisticky významný rozdíl, nebyl zjištěn statisticky významný rozdíl ani v koncentraci jódu ve štítné žláze a ani v proliferační aktivitě (PCNA) folikulárního epitelu (tabulka 26).

Tabulka 26 - Koncentrace jódu ve štítné žláze a proliferační aktivita folikulárního epitelu u jehnic

	Jód ve štítné žláze ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)		PCNA	
	průměr	s_x	průměr	s_x
Jehnice C	1321	378,21	4,33	1,11
Jehnice D	1450	172,46	4,42	1,10

Příjem jódu u jednotlivých skupin: Jehnice C – $10 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ sušiny KD; Jehnice D $10 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ sušiny KD (součástí KD byly i strumigenní látky – řepkový extrahovaný šrot, dusičnan sodný- $1 \text{ g}\cdot\text{ks}^{-1}$ a den)

5.3.4 Histologické vyšetření

Mezi porovnávanými skupinami jehnic nebyly zjištěny rozdíly ani významné patologické změny. V lalocích dominovaly folikuly malé a střední velikosti vystlané kubickým až nízké kubickým folikulárním epitelem. V některých případech byly přítomny i velice malé folikuly (mikrofolikuly) s žádným nebo velmi nízkým obsahem koloidu. U dvou jehnic ze skupiny C se vyskytly heterotopické parathyroidey. U dalších dvou jehnic byly přítomny cysty vystlané dlaždicovitým rohovějícím i nerohovějícím epitelem. Ve dvou případech byly ve štítné žláze pozorovny solidní čepy tyreocytů. U skupiny jehnic D, které kromě vysoké dávky jódu přijímaly ještě strumigenní látky, byly ve třech případech zjištěny cysty vystlané dlaždicovitým rohovějícím i nerohovějícím epitelem. U jedné jehnice byla zjištěna v centru jednoho z laloků je jedna relativně velká cysta vystlaná dlaždicovým nerohovějícím epitelem s početnými deskvamovanými epiteliiemi v lumen. V druhém laloku byly pozorovány další dvě malé cysty. Jedna se stejnou stavbu jako v předchozím laloku, druhá, menší byla vystlána kubickým epitelem, segmentálně s patrnými ciliemi. Epitelie vykazovaly patrné známky sekrece, v lumenu cysty byl zjištěn proteinový sekret. Kromě jednoho zvíře byly u všech zbývajících jehnic pozorovány solidní čepy tyreocytů. U jedné jehnice ze skupiny D byly ve štítné žláze pozorovány zároveň heterotopický thymus, heterotopická parathyroidea i diseminované solidní čepy tyreocytů.

5.3.5 Souhrn výsledků

Při hodnocení výsledků nebyly mezi skupinami jehnic ani u jednoho sledovaného parametru prokázány výraznější rozdíly. Hmotnost štítné žlázy u obou skupin dosahovala hodnot popsaných v literatuře pro normální štítnou žlázu. Ani u skupiny jehnic přijímajících strumigenní látky nebylo pozorováno zvýšení hmotnosti štítné žlázy tak jak je popsáno v literatuře. Příjem strumigenních látek se u jehnic neprojevil ani na velikostních parametrech (délka, šířka, plocha) folikulů štítné žlázy. Při porovnání s literárními údaji byly u obou skupin jehnic bez rozdílu, zda přijímaly nebo nepřijímaly strumigenní látky, pozorovány výrazně vyšší rozměry folikulů (délka, šířka folikulů). Rozdíl mezi skupinami nebyl pozorován ani v procentuálním zastoupení jednotlivých velikostních kategorií folikulů. Ve štítné žláze u obou skupin se nacházelo více než 90 % velkých a středních folikulů. Ani ve výšce epitelálních buněk, koncentraci jódu ve štítné žláze či v proliferační aktivitě tyreocytů nebyly zaznamenány mezi skupinami rozdíly. V porovnání s literaturou bylo zjištěno jen nepatrné snížení celkové výšky epitelálních buněk. Při histologickém vyšetření nebyly pozorovány patologické změny, které by bylo možné připsat příjmu vysokých dávek jódu či příjmu strumigenních látek.

5.4 Parametry štítné žlázy skotu

5.4.1 Hmotnost a relativní hmotnost štítné žlázy skotu

Hmotnost štítné žlázy jatečného skotu (tabulka 27) se pohybovala od 16,4±4,2 g (telata) do 47,2±23,3 g (krávy). Nejnižší individuální hmotnost byla zjištěna u telete (10,5 g) a nejvyšší u krávy (122,8 g). Hmotnost štítné žlázy poražených krav se vyznačovala značnou variabilitou (variační koeficient 49,4%), ovlivněnou živou hmotností (406-801 kg) a věkem (27 až 126 měsíců). Průměrné hmotnosti štítné žlázy u všech skupin kromě skupiny telat byly zřetelně vyšší v porovnání s údaji Kratochvíla (1998), které zjistil u zvířat s normální histologickou stavbou. Hmotnost štítné žlázy zjištěná u kategorie býků přibližně odpovídá hodnotě, kterou udává Meyer et al. (2008). Uvedený autor uvádí průměrnou hmotnost štítné žlázy 42±10 g u býků ve výkrmu při příjmu 10 mg I na kg sušiny krmné dávky.

Nejnižší průměrná relativní hmotnost štítné žlázy byla zjištěna u skupiny býků. Na rozdíl od absolutní hmotnosti štítné žlázy nebyl pozorován rozdíl v relativní hmotnosti štítné žlázy krav a jalovic. Nejvyšší hodnota relativní hmotnosti byla u telat o 43,8-59,4 % vyšší v porovnání se zbylými skupinami. Statisticky významný rozdíl však nebyl díky vysoké variabilitě a malé velikosti souboru prokázán. V porovnání s údaji Kratochvíla (1998), byla relativní hmotnost štítné žlázy výrazně nižší a to u všech skupin kromě skupiny telat (tabulka 28).

Tabulka 27 - Hmotnost a relativní hmotnost štítné žlázy skotu

	Hmotnost štítné žlázy		Relativní hmotnost	
	(g)		(%)	
	průměr	s _x	průměr	s _x
Krávy	47,2 ^a	23,3	0,0086	0,0025
Býci	43,6	12,2	0,0062	0,0010
Jalovice	37,3 ^b	5,3	0,0084	0,0011
Telata	16,4	4,2	0,0153	0,0032

^{a,b} P < 0,05

Tabulka 28 - Hmotnost a relativní hmotnost štítné žlázy skotu s normálním histologickým obrazem (Kratochvíl, 1998)

	Hmotnost štítné žlázy (g)		Relativní hmotnost (%)	
	průměr	s _x	průměr	s _x
Krávy	29,3	12,17	0,0056	0,0033
Býci	24,1	-	0,0043	-
Jalovice	25,7	10,3	0,0051	0,0011
Telata	17,4	3,5	0,0174	0,0112

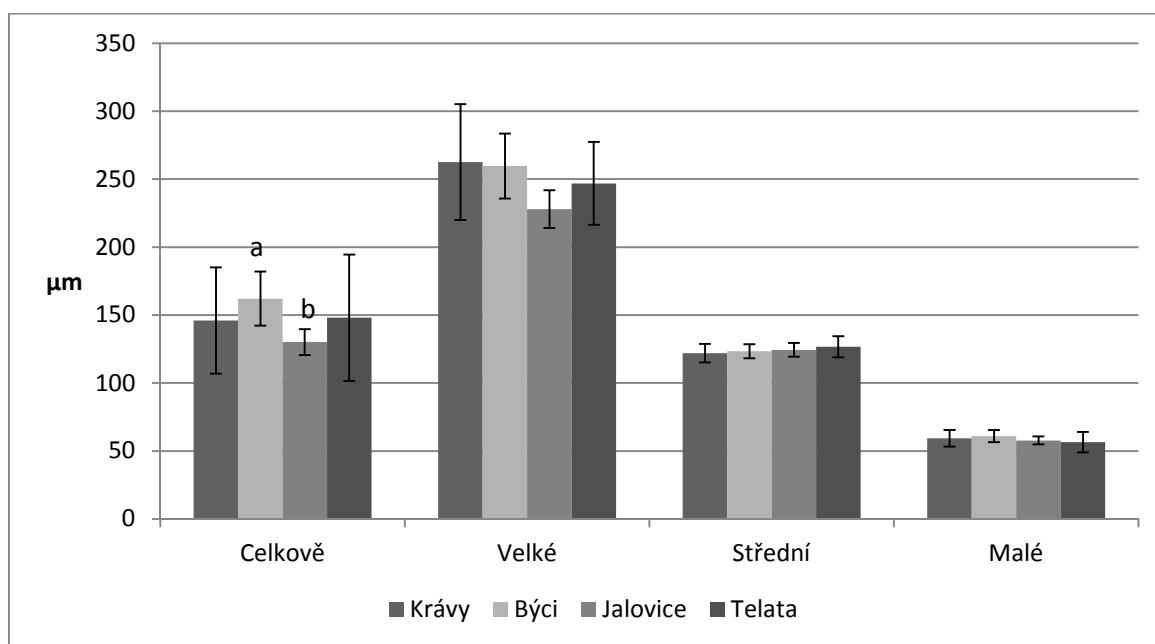
5.4.2 Velikostní charakteristiky folikulů a epitelu štítné žlázy skotu

5.4.2.1 Délka, šířka a plocha folikulů u skotu

Délka folikulů

Statisticky významný rozdíl ($P < 0,05$) byl zjištěn v průměrné velikosti folikulů (bez ohledu na velikost kategorií) mezi skupinami jalovic a býků. Největší velikosti dosáhly velké folikuly u skupiny krav a nejmenší velikost byla zaznamenána u skupiny jalovic. Kategorie středních folikulů u všech sledovaných skupin dosáhla přibližně stejné hodnoty. Ani v kategorii malých folikulů nebyly pozorovány výraznější rozdíly (graf 18). Průměrná velikost folikulů krav odpovídá údajům Kratochvíla (1998) ($146,96 \pm 35,41 \mu\text{m}$). Délka folikulů jalovic byla nižší a u býků vyšší než uvádí autor. Při porovnání s údaji Krabačové (2002) byla u krav v kategoriích velkých a středních folikulů zjištěna o 11,8 % menší délka (autorka uvádí u velkých folikulů $297,88 \pm 84,82 \mu\text{m}$, středních folikulů $125,84 \pm 25,22 \mu\text{m}$ a malých folikulů $49,71 \pm 13,17 \mu\text{m}$). Délka malých folikulů byla naopak o 18 % větší, než uvádí autorka. Serakides et al. (1999) uvádí výrazně vyšší průměrnou délku folikulů ($209,97 \mu\text{m}$) pro býky ve výkrmu.

Graf 18 - Délka folikulů štítné žlázy skotu



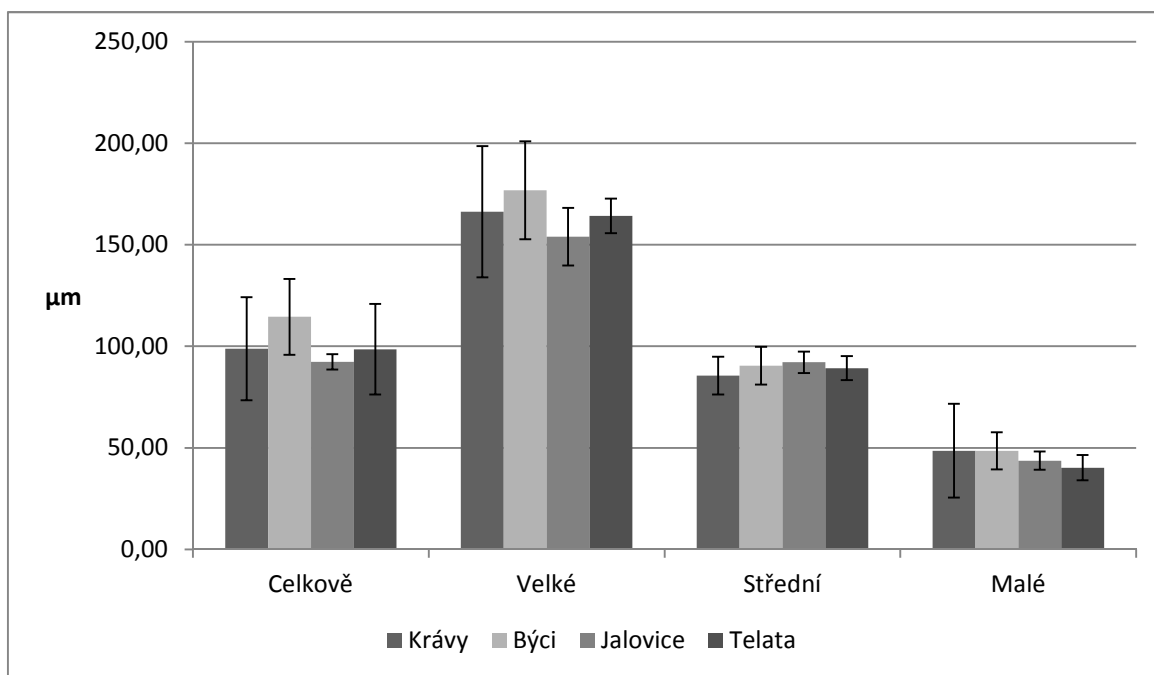
^{a,b} P<0,05

Šířka folikulů

V šířce folikulů nebyly mezi skupinami zjištěny žádné signifikantní rozdíly. Výsledky do značné míry kopírovaly situaci v případě délky folikulů. Nejširší folikuly byly u skupiny býků, naopak nejmenší šířka u stejných velikostních kategorií folikulů byla u skupiny jalovic. Mezi šířkou středních a malých folikulů nebyly mezi skupinami zjevné rozdíly (graf 19).

V porovnání s výsledky Kratochvíla (1998) byla u skupiny jalovic zjištěna nižší průměrná šířka a u skupin krav a býků odpovídala údajům, které uvádí autor v závislosti na živé hmotnosti (jalovice – $103,53 \pm 63,3$ – $125,71 \pm 29,77$ μm ; krávy – $93,25 \pm 17,50$ – $125,71 \pm 29,77$ μm ; býci – $109,8 \pm 28,62$ μm). Výrazně vyšší průměrnou šířku folikulů ($166,61 \pm 31,78$ μm) u vykrmovaných býků uvádí Serakides et al. (1999).

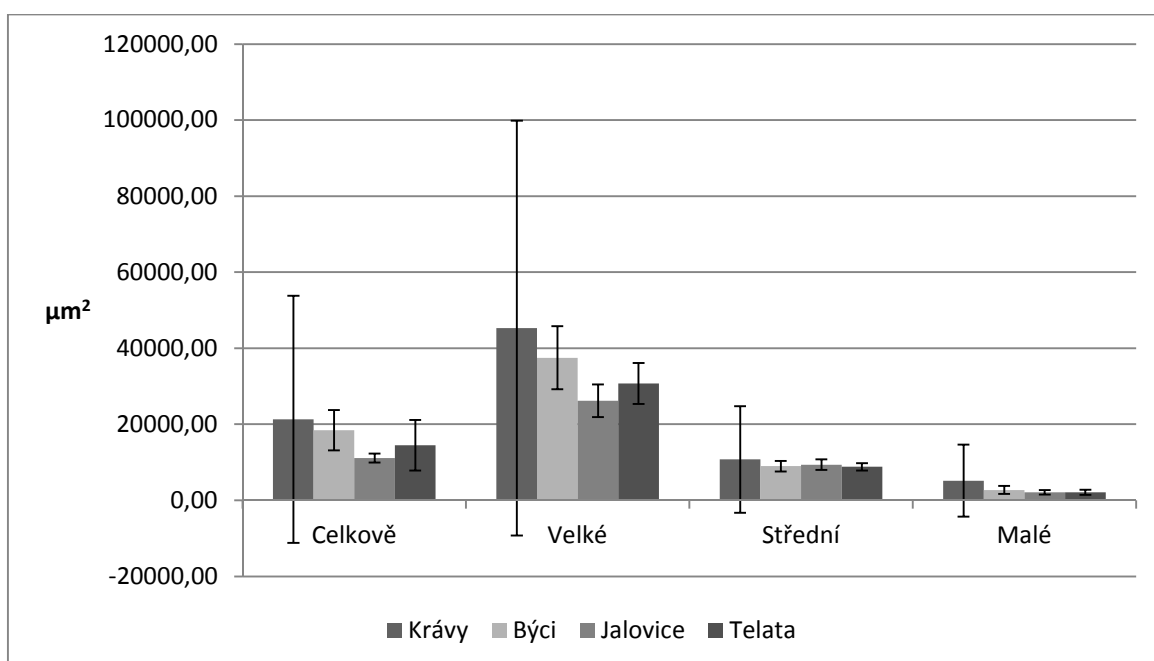
Graf 19 – Šířka folikulů štítné žlázy skotu



Plocha folikulů

Plochy folikulů se vyznačovaly velkou variabilitou. Největší průměrnou plochu folikulů u velkých a středních folikulů vykazala skupina krav a býků. Nejmenší plocha byla pozorována u skupin jalovic a telat (graf 20).

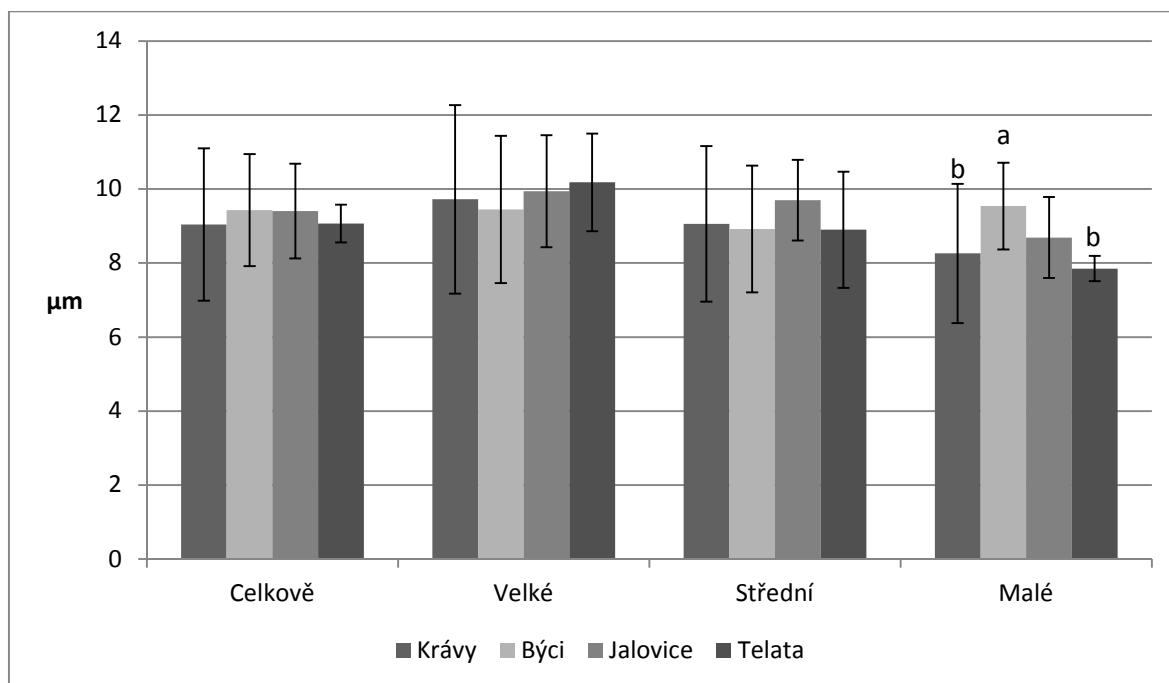
Graf 20 – Plocha folikulů štítné žlázy skotu



5.4.2.2 Výška folikulárního epitelu u skotu

Průměrná výška folikulárních buněk (tyreocytů) i výška folikulárních buněk v jednotlivých velikostních kategoriích folikulů nevykazovala mezi skupinami statisticky významné rozdíly. Výjimku tvořila výška tyreocytů v kategorii malých folikulů u skupiny býků, u nichž byla v porovnání se skupinami krav a telat zjištěna výrazně ($P < 0,05$) větší výška (graf 21). Ve srovnání s údaji Kratochvíla (1998), je zjištěná průměrná výška tyreocytů u krav a býků o 28,9 % respektive o 14,6 % nižší, naopak u jalovic a telat o 18 % a 8 % vyšší. Naopak Jelínek et al. (2003) uvádí výrazně nižší hodnoty výšky folikulárních buněk u krav (7,06 μm ve velkých folikulech a 8,39 μm v malých folikulech). Také Serakides et al. (1999) uvádí nižší průměrnou výšku tyreocytů u jatečně poražených býků je (6,27 \pm 0,86 μm). V rozporu s nálezy Krabačové (2002) se výška tyreocytů krav v našem případě snižovala v pořadí velké, střední a malé folikuly (graf 21). Luvizotto (1984) uvádí, že průměrná výška epitelu skotu u koloidní strumy je v průměru 9,25 – 10,98 μm .

Graf 21 – Výška folikulárního epitelu štítné žlázy skotu

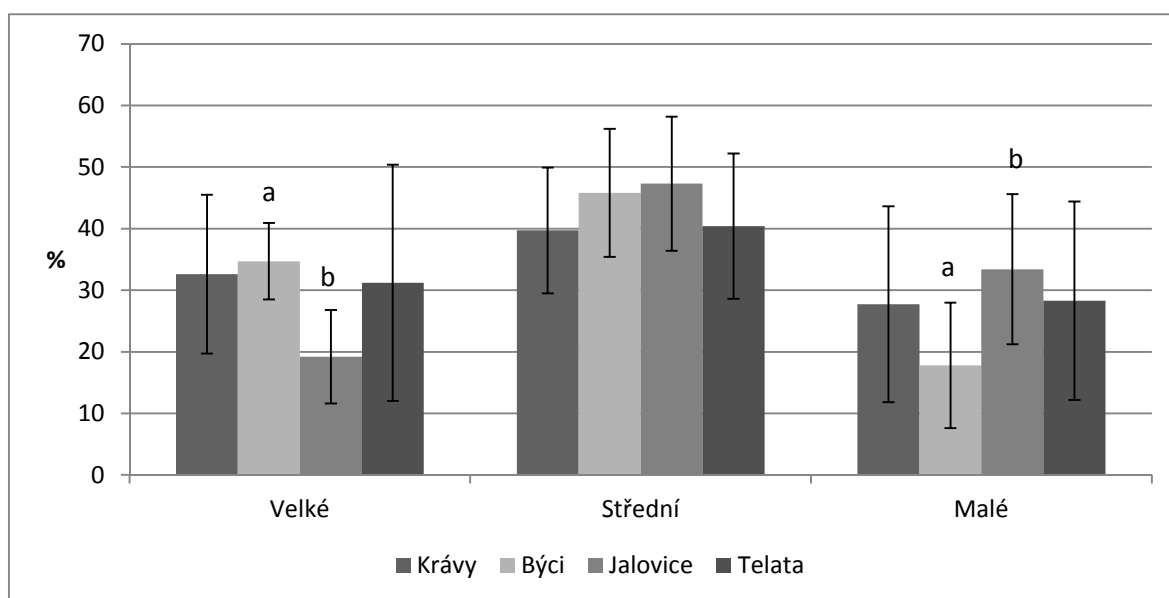


^{a,b} $P < 0,05$

5.4.2.3 Procentuální zastoupení jednotlivých velikostních kategorií folikulů

V grafu 22 je uvedeno procentuální zastoupení jednotlivých velikostních kategorií folikulů. Nejnižší zastoupení velkých folikulů bylo u jalovic a naopak nejvyšší zastoupení velkých folikulů bylo pozorováno u skupiny býků. Statisticky významný rozdíl v zastoupení velkých a malých folikulů byl prokázán při porovnání skupin jalovic a býků ($P < 0,05$). Při porovnání s výsledky publikovanými Jelínkem et al. (2003) bylo u krav zjištěno o 17,8 % vyšší zastoupení velkých a o 5,3 % res. 8,9 % nižší zastoupení středních a malých folikulů.

Graf 22 - Procentuální zastoupení jednotlivých velikostních kategorií folikulů ve štítné žláze skotu



^{a,b} $P < 0,05$

5.4.3 Koncentrace jódu ve štítné žláze a proliferační aktivita folikulárního epitelu skotu

Zjištěné koncentrace jódu ve štítné žláze skotu byly velice variabilní. U skupiny krav se koncentrace jódu ve štítné žláze pohybovala mezi $418,8-3890,4 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, u skupiny býků mezi $523,0-1683,6 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ podobně tak i u telat ($358,0-1848,0 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$). Nejnižší variabilitu koncentrace jódu ve štítné žláze vykazovala skupina jalovic ($351,0-794,4 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$). Z tabulky 29 je patrný vysoký obsah jódu ve štítné žláze u krav, telat a býků, což lze

vysvětlit vysokým obsahem jódu v jejich krmných dávkách krav. Výživa jalovic v odchovu je zaměřena především na objemná krmiva a menší pozornost je přikládána nabídce minerálních krmných přísad obsahující jód. Podle Teng et al. (2009) , lze obsah jódu ve štítné žláze považovat za ukazatel jeho příjmu. Meyer et al. (2008) experimentálně ověřil dopad vysokých alimentárních dávek na koncentraci jódu ve štítné žláze u vykrmovaných býků a udává koncentraci $844 \pm 558 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ při dávce 10 mg I na kg sušiny KD. V tabulce 30 jsou uvedeny závislosti jednotlivých sledovaných parametrů na obsahu jódu ve štítné žláze.

Výrazně nejnižší ($P < 0,05$) proliferační aktivita (PCNA) tyreocytů byla zjištěna u skupiny krav. V porovnání s ostatními sledovanými skupinami dosáhla PCNA u krav jen 15-20 %. Skupiny býků, jalovic a telat dosáhly přibližně podobné úrovně. Jelínek et al. (2003) uvádí, že PCNA je vhodný parametr pro hodnocení proliferační aktivity folikulární epitelu štítné žlázy skotu. Autor ve své práci zaznamenal nejvyšší proliferační aktivitu tyreocytů v malých folikulech a naopak nejnižší aktivitu ve velkých folikulech.

Tabulka 29 - Koncentrace jódu ve štítné žláze a proliferační aktivita tyreocytů (PCNA) u skotu

	Jód ve štítné žláze ($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$)		PCNA	
	průměr	s_x	průměr	s_x
Krávy	1463,4	940,9	4,90 ^a	2,51
Býci	1192,0	451,1	24,52 ^b	4,75
Jalovice	591,4	171,0	28,75 ^b	5,76
Telata	1372,8	597,3	32,31 ^b	10,11

a:b $P < 0,05$

Tabulka 30 - Závislost některých histometrických parametrů na obsahu jódu ve štítné žláze a proliferační aktivitě tyreocytů (PCNA) u skotu

Parametr		Korelační koeficient
Jód ve štítné žláze ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	Hmotnost štítné žlázy (g)	-0,20
Jód ve štítné žláze ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	Plocha folikulu (μm^2)	0,30
Jód ve štítné žláze ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	Průměrná výška epitelu (μm)	-0,21
Jód ve štítné žláze ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	Procento velkých folikulů (%)	0,52
Jód ve štítné žláze ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	Procento malých folikulů (%)	-0,52
Jód ve štítné žláze ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	PCNA	-0,43
PCNA	Hmotnost štítné žlázy (g)	0,22
PCNA	Výška epitelu velkých folikulů (μm)	0,23
PCNA	Průměrná výška epitelu (μm)	0,63

5.4.4 Histologické vyšetření

Histologické vyšetření štítných žláz krav neprokázalo závažné patologické změny. Ve štítných žlázách krav ve věku 4-12 let byly vzájemně promíseny folikuly rozdílné velikosti (malé, střední i velké až obrovské) s převahou středních a velkých folikulů. Koloid byl homogenní, eosinofilní, v ojedinělých folikulech byly resorpční vakuoly. Tyreocyty v malých a středních folikulech byly kubické až vysoce kubické, ve velkých folikulech spíše nízce kubické až ploché. V některých folikulech byl větší či menší počet tyreocytů nekrotických.

Nález nekrotických tyreocytů je obtížné interpretovat. Změny tohoto typu jsou v literatuře označovány jako idiopatická atrofie folikulů. Idiopatická atrofie folikulů je charakterizovaná ztrátou folikulárního epitelu a substitucí folikulů tukovou tkání při minimální zánětlivé reakci (Capen, 2006; La Perle et al., 2003). Ve vyšetřených thyroideách však nekróza tyreocytů nebyla spojena s deformací folikulů, ani jejich substitucí tukovou tkání a rovněž nebyla přítomna zánětlivá celulisace.

5.4.5 Souhrn výsledků

U sledovaného souboru zvířat byly zjištěny histometrické parametry, které při porovnání s údaji jiných autorů vykazují rozdíly. Tyto rozdíly jsou zejména ve velikostech folikulů, výšce folikulárního epitelu či procentuálním zastoupením jednotlivých velikostních kategorií folikulů. Hmotnost štítné žlázy u sledovaných skupin krav, býků a jalovic dosahovala vyšších hodnot v porovnání s literárními hodnotami zjištěných v devadesátých letech. Kromě skupiny jalovic dosáhla průměrná délka folikulů krav a býků stejné nebo vyšší hodnoty. U skupiny jalovic byly zjištěny nižší hodnoty, než jsou uváděny v literatuře. Zjištěné výsledky u všech skupin byly velice konzistentní a jediný statisticky prokazatelný rozdíl byl pozorován mezi celkovou průměrnou délkou folikulů býků a jalovic. V porovnání se staršími literárními údaji bylo pozorováno snížení rozměrů velkých a středních folikulů a naopak výrazné zvýšení rozměrů malých folikulů krav. Výška folikulárního epitelu krav a býků dosáhla výrazně nižších a naopak u skupiny jalovic a telat zřetelně vyšších hodnot než je uváděno v literatuře. V kategorii malých folikulů byla u skupiny býků prokázána výrazně větší výška folikulárních buněk v porovnání se skupinami jalovic a krav. U skupiny krav bylo v porovnání s literaturou zjištěno výrazně vyšší zastoupení velkých a zřetelně nižší zastoupení středních a malých folikulů. Mezi skupinami jalovic a býků byl prokázán statisticky významný rozdíl v zastoupení velkých a malých folikulů.

Koncentrace jódu ve vzorcích štítné žlázy krav, býků a telat se pohybovala na podobné úrovni, která výrazně překračuje v literatuře popsanou hodnotu v experimentech na býcích ve výkrmu, kterým byla podávána dávka 10 mg jódu na kg sušiny krmné dávky. Tento fakt potvrzuje výsledky různých autorů, kteří ve stejném období, kdy byly odebírány vzorky štítné žlázy, pozorovali enormně vysoké koncentrace jódu v mléce krav.

Zjištěné výsledky v porovnání s údaji autorů, kteří sledovali podobnou problematiku v předchozích obdobích, naznačují snížení aktivity štítné žlázy jatečně poráženého skotu v souvislosti s příjmem vysokých dávek jódu z prostředí.

6 Závěr

V provedených experimentech na ovcích, jehňatech a jalových jehnicích plemene Šumavská ovce, ve kterých byl sledován dopad různých dávek jódu, selenu a strumigenů na štítnou žlázu, byly pozorovány rozdíly v morfologických, morfometrických a vybraných funkčních parametrech štítné žlázy.

Při porovnání výsledků z pokusu na bahnicích byly učiněny následující závěry:

- Příjem jódu v množství 3 a $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ sušiny KD statisticky významně neovlivnil hmotnost štítné žlázy.
- S růstem obsahu jódu v KD se zvětšovaly folikuly štítné žlázy (délka, šířka, plocha) folikulů) a snižovala výška folikulárního epitelu.
- Dávka 3 a 5 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ sušiny KD jódu u bahnic neměla prokazatelný vliv na procentuální zastoupení jednotlivých velikostních kategorií folikulů.
- U bahnic s příjmem 3 nebo 5 $\text{mg I}\cdot\text{kg}^{-1}$ sušiny KD nebyl zaznamenán rozdíl v proliferační aktivitě folikulárních buněk a v obsahu jódu ve štítné žláze.

Zjištěné výsledky z experimentů na jehnicích naznačují, že:

- Příjem 5 $\text{mg I}\cdot\text{kg}^{-1}$ sušiny KD ve srovnání s 3 $\text{mg I}\cdot\text{kg}^{-1}$ suš. KD prokazatelně zvýšil (o 27 %) hmotnost štítné žlázy jehnic. Vyšší příjem jódu další zvýšení hmotnosti štítné žlázy nevyvolal.
- Byl signifikantně prokázán vliv zvyšujících se dávek jódu na velikostní parametry (délka, šířka, plocha) folikulů jehnic. Byla prokázána vysoká korelace mezi příjmem jódu a celkovou délkou folikulů ($r = 0,73$).
- Podobně byl prokázán dopad zvyšujících se dávek jódu na procentuální zastoupení jednotlivých velikostních kategorií folikulů. S rostoucí dávkou jódu prokazatelně stoupalo procento velkých folikulů a naopak klesal počet malých folikulů.
- Byl prokázán vliv zvyšujících se dávek jódu (3 - 5 $\text{mg I}\cdot\text{kg}^{-1}$ suš. KD) na snížení výšky tyreocytů a pokles jejich proliferační aktivity. S růstem obsahu jódu v KD (10 $\text{mg I}\cdot\text{kg}^{-1}$ suš. KD) se uvedené tendence neprohlubovaly.

- Zvýšený příjem jódu se prokazatelně odrazil na zvýšení koncentrace jódu ve štítné žláze.
- Příjem strumigenních látek (dusičnanu sodného a řepkového extrahovaného šrotu) při vysoké suplementaci jódu (10 mg I•kg⁻¹ suš. KD) neovlivnil histometrické parametry štítné žlázy.
- Na základě zjištěných údajů u skupin s příjmem 10 mg jódu (res. 10 mg jódu a strumigenních látek) můžeme uvažovat o uplatnění vysoké dávky jódu jako strumigenního faktoru, který je v literatuře znám jako Wolffův – Chaikoffův effect.

Při porovnání výsledků pokusů na jehňatech lze učinit následující závěry:

- Nebyl pozorován vliv příjmu 0,7 a 1,4 mg jódu na hmotnost štítné žlázy, naopak u jehňat přijímajících 5 mg jódu, byl prokázán rozdíl oproti skupině s příjmem 3 mg jódu. Příjem 3 a 5 mg jódu měl prokazatelný vliv na vyšší hmotnost (o 22 – 34 %), než skupin s příjmem 0,7 a 1,4 mg.
- Rozdíly v rozměrech folikulů (délce, šířce a ploše) byly pozorovány jen u jednotlivých experimentech. Výsledky nepotvrdily předpoklad, že vyšší příjem jódu způsobí zvětšení folikulů, naopak skupina s nejvyšším příjmem (5 mg I•kg⁻¹suš. KD) vykázala nejmenší celková rozměry i plochu folikulů.
- Příjem diferencovaných dávek jódu (0,7-5 mg I•kg⁻¹suš. KD) se u jehňat (ani při porovnání obou pokusů) neodrazil v procentuálním zastoupení jednotlivých velikostních kategorií folikulů, koncentraci jódu ve štítné žláze či proliferační aktivitě folikulárních buněk.
- Zjištěné výsledky potvrzují předpoklad, že vyšší dávky jódu budou mít za následek snížení výšky folikulárních buněk, avšak jen v rámci jednotlivých experimentů.
- Nižší příjem selenu (0,2 versus 0,4 mg) při stejné dávce jódu (0,7 mg I•kg⁻¹suš. KD) se prokazatelně projevil na zvýšení hmotnosti štítné žlázy, zmenšení folikulů a zvýšení tyreocytů.

Ze zjištěných výsledků u jatečně poraženého skotu vyplývá:

- Hmotnost štítné žlázy u jednotlivých kategorií (až na skupinu jalovic) dosahovala vyšších hodnot, než je uváděno v literatuře.
- Kromě celkové délky folikulů u jalovic nebyly pozorovány prokazatelné rozdíly ve velikostních parametrech (délka, šířka, plocha) folikulů mezi sledovanými skupinami.
- Kromě výšky tyreocytů v kategorii malých folikulů u skupiny býků, nebyly ve výšce folikulárních buněk mezi kategoriemi zjištěny zřetelné rozdíly.
- Koncentrace jódu ve vzorcích štítných žláz krav, býků a telat dosahovaly obdobné úrovně, která je v literatuře popisovaná v experimentech na býcích, kterým byla podávána krmná dávka s koncentrací $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ sušiny KD.
- Zjištěné výsledky naznačují snížení aktivity štítné žlázy jatečně poraženého skotu, která má pravděpodobnou souvislost s v literatuře popsáním vysokým příjmem jódu v tuzemských chovech.

Z uvedených výsledků této práce vyplývá nutnost kontinuálního sledování stavu štítné žlázy a koncentrace jódu v tělních tekutinách. Nutná je optimalizace jódové výživy u hospodářských zvířat jako hlavního faktoru ovlivňující funkční stav štítné žlázy. Za maximální dávku považujeme 3 mg jódu na kg sušiny krmné dávky.

Summary

The aim of this work was the extension of knowledge about the impact of high iodine intake on thyroid gland structure and other parameters of thyroid gland in ruminants.

During the years 2008-2011 three long-term experiments were performed on Šumava breed ewes, lambs and barren gimmers. The first experiment was realised on 13 lambs divided in three groups. Mothers of these lambs were fed an experimental feed mixture with high iodine and selenium content. After birth all lambs received ewes milk and the same experimental feed mixture as the ewes. The second experiment was realised on two groups of ewes (n=12) and their lambs (n=7) and on two groups of barren gimmers (n=12). The experimental groups of ewes and gimmers were fed with an experimental mixture containing 5 mg iodine per kg of dry matter and the control groups received a mixture containing 3 mg iodine per kg of dry matter. In the third experiment two groups of barren gimmers (n=12) were used. Both groups received 10 mg of iodine per kg dry matter but the experimental mixture for experimental group contained rape seed meal and 1g of sodium nitrate per day and head. All animals in all experiments were killed at the slaughter house and samples for histological treatment and analyses of iodine concentration were taken. Besides experiments on sheep also samples of bovine thyroid gland were taken in the slaughter house. Altogether 29 cows, 10 bulls, 7 heifers and 4 calf's thyroid glands were sampled for morphometric, immunohistochemic examination and determination of iodine concentration.

After animals slaughter the thyroid gland was dissected and weighed. The samples for histological treatment were fixed in 10% neutral buffered formalin, embedded in paraffin wax, sectioned at 5 µm thick slices and stained with haematoxylin and eosin. The size of 60 follicles (length, width and area) and the height of 20 follicular cells in three follicle categories by length (large - 175.1–615.0 µm; medium - 80.1–175.0 µm; small - 15.0–80.0 µm) were determined from three fields of vision in different parts of the histological section. The number of PCNA (proliferation cell nuclear antigen) positive nucleuses in thyrocytes in ten different fields of vision from different parts of the section was estimated as an indicator of proliferative activity of the thyroid follicular cells.

In groups of lambs with the higher iodine intake (1.4 mg iodine per kg dry matter) a reduction of thyroid weight was determined. Other effects of the dosage 1.4 mg iodine were increase of long and medium follicles and lower height of thyreocytes. The higher iodine intake did not have an influence on percentage of size follicles categories, concentration of iodine in thyroid or proliferation (PCNA) of thyreocytes.

Ewes with an iodine intake of 5 mg iodine per kg dry matter showed higher thyroid weight, higher size parameters of follicles (length, width and area) and lower height of thyreocytes. No differences between lambs with iodine intake 3 and 5 mg were found. Compared to literature the height of epithelium was lower.

Between gimmers receiveing 10 mg of iodine and gimmers with intake of the same iodine dosage and strumigenes no differences in thyroid weight, histometrical parameters of the thyroid and concentration of iodine in thyroid gland were found. The length of follicles was higher and height of epithelium was smaller compared to data found in literature.

Compared to literature data differences in observed parameters were found. In the present study higher thyroid weight, decrease of length of large follicles and increase of follicles size of medium and small follicles in all groups were found. In the cows, bulls and heifer the height of thyreocytes was decreased while in calves the thyreocytes were higher. The concentration of iodine in the thyroid in cows, bulls and calves was similar as in experiments with high iodine intake (10 mg per kg dry matter) on bulls described in literature. Our results indicate a lower activity of the thyroid gland in all groups, which correlates with the high iodine concentration of the mineral mixtures.

7 Seznam obrázků

Obrázek 1 – Kapilární síť folikulů štítné žlázy	13
Obrázek 2 – Utváření folikulů.....	15
Obrázek 3 – Parenchymatózní struma - štítná žláza skotu	17
Obrázek 4 – Štítná žláza skotu – koloidní struma	18
Obrázek 5 – Ultimobrachyální cysta - štítná žláza ovce	20
Obrázek 6 – Heterotopická parathyroidea - štítná žláza ovce	21
Obrázek 7 – Topografie štítné žlázy ovce	22
Obrázek 8 – Štítná žláza ovce	22
Obrázek 9 – Topografie štítné žlázy skotu.....	23
Obrázek 10 – Štítná žláza skotu	24

8 Seznam tabulek

Tabulka 1 – Koncentrace jódu ve štítné žláze býků při diferencovaných dávkách jódu (Meyer et al., 2008)	35
Tabulka 2 – Koncentrace jódu ve štítné žláze prasat s diferencovaným příjmem jódu (Franke et al., 2006).....	35
Tabulka 3 – Charakteristika pokusných skupin jehňat.....	38
Tabulka 4 – Složení pokusné krmné dávky.....	39
Tabulka 5 – Charakteristika pokusných bahnic a jehnic (pokus č. 2).....	40
Tabulka 6 – Charakteristika pokusných skupin jehňat (pokus č. 2).....	40
Tabulka 7 – Charakteristika skupin jehnic (pokus č. 3).....	41
Tabulka 8 – Charakteristika skotu.....	42
Tabulka 9 – Postup histologické úpravy vzorků	42
Tabulka 10 – Postup barvení hematoxylinem a eosinem.....	43
Tabulka 11 – Hmotnost a relativní hmotnost štítné žlázy jehňat	46
Tabulka 12 – Korelace mezi hmotnostmi štítné žlázy a vybranými parametry štítné žlázy u jehňat	47
Tabulka 13 – Procentuální zastoupení jednotlivých velikostních kategorií folikulů jehňat	51
Tabulka 14 – Koncentrace jódu ve štítné žláze a proliferační aktivita tyreocytů (PCNA) u jehňat	53
Tabulka 15 – Korelace mezi koncentrací jódu ve štítné žláze a vybranými parametry štítné žlázy jehňat.....	53
Tabulka 16 – Hmotnost a relativní hmotnost štítné žlázy bahnic a jehnic.....	56
Tabulka 17 – Korelační závislosti mezi některými sledovanými parametry bahnic a jehnic	56
Tabulka 18 – Procentuální zastoupení jednotlivých velikostních kategorií folikulů bahnic a jehnic	60
Tabulka 19 – Koncentrace jódu ve štítné žláze a proliferační aktivita folikulárního epitelu bahnic a jehnic	62
Tabulka 20 – Korelační závislosti mezi některými parametry	62
Tabulka 21 – Parametry štítné žlázy jehňat.....	64
Tabulka 22 – Proliferační aktivita folikulárního epitelu (PCNA) štítné žlázy jehňat.....	68

Tabulka 23 – Korelační závislost mezi vybranými parametry	69
Tabulka 24 – Hmotnost a relativní hmotnost štítné žlázy	71
Tabulka 25 – Procentuální zastoupení jednotlivých velikostních kategorií folikulů jehnic	74
Tabulka 26 – Koncentrace jódu ve štítné žláze a proliferační aktivita folikulárního epitelu u jehnic	76
Tabulka 27 – Hmotnost a relativní hmotnost štítné žlázy skotu	78
Tabulka 28 – Hmotnost a relativní hmotnost štítné žlázy skotu s normálním histologickým obrazem (Kratochvíl, 1998).....	79
Tabulka 29 – Koncentrace jódu ve štítné žláze a proliferační aktivita tyreocytů (PCNA) u skotu	84
Tabulka 30 – Závislost některých histometrických parametrů na obsahu jódu ve štítné žláze a proliferační aktivitě tyreocytů (PCNA) u skotu	85

9 Seznam grafů

Graf 1 – Délka folikulů jehňat.....	48
Graf 2 – Šířka folikulů jehňat.....	49
Graf 3 – Plocha folikulů jehňat	50
Graf 4 – Výška epitelu v jednotlivých velikostních kategoriích folikulů jehňat.....	52
Graf 5 – Délka folikulů bahnic a jehnic	57
Graf 6 – Šířka folikulů bahnic a jehnic.....	58
Graf 7 – Plocha folikulů bahnic a jehnic	59
Graf 8 – Výška epitelu bahnic a jehnic.....	61
Graf 9 – Délka folikulů jehňat.....	65
Graf 10 – Šířka folikulů jehňat	65
Graf 11 – Plocha folikulů jehňat.....	66
Graf 12 – Procentuální zastoupení jednotlivých velikostních kategorií folikulů jehňat	67
Graf 13 – Výška epitelu jehňat	68
Graf 14 – Délka folikulů jehnic	72
Graf 15 – Šířka folikulů jehnic	73
Graf 16 – Plocha folikulů jehnic.....	73
Graf 17 – Výška folikulárního epitelu jehnic	75
Graf 18 – Délka folikulů štítné žlázy skotu.....	80
Graf 19 – Šířka folikulů štítné žlázy skotu	81
Graf 20 – Plocha folikulů štítné žlázy skotu.....	81
Graf 21 – Výška folikulárního epitelu štítné žlázy skotu	82
Graf 22 – Procentuální zastoupení jednotlivých velikostních kategorií folikulů ve štítné žláze skotu	83

10 Přílohy

Seznam vlastních publikovaných prací

1. Peksa Z., Trávníček J., Jelínek F., Konečný R., Dušová H., Hasoňová L., Pálka V. (2013): Histometric and biochemical properties of the thyroid gland in sheep with high iodine supplementation. *Acta Veterinaria Brno*, 82(4): 405-409.
2. Peksa Z., Trávníček J., Jelínek F., Konečný R., Dušová H., Volfová V., Vrbová A., Zábanský L., Falta D., Pálka V. (2013): The effect of iodine and strumigens long-term foodborne intake on histometrical parameters of thyroid gland in gimmers. *Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendeliana Brunensis*, 61(5) 1365-1369.
3. Peksa Z., Trávníček J., Dušová H., Konečný R., Hasoňová L. (2011): Morphological and histometric Parameters of the Thyroid Gland in slaughtered Cattle. *Journal of Agrobiology*, 28(1): 79–84.
4. Konečný R., Trávníček J., Hasoňová L., Plicka J., Kroupová V., Staňková M., Peksa Z. (2011): Antibody Production in Sheep Fed a Diet containing brown Seaweed. *Journal of Agrobiolgy*, 28(1): 61-65.
5. Písek L., Trávníček J., Peksa Z., Dušová H., Konečný R., Šoch M. (2012): The Influence of high Selenium Intake of Ewes on Leukocytes in newborn Lambs. *Journal of Agrobiology*, 29(1):33-39.
6. Dušová H., Trávníček J., Svoboda M., Baňoch T., Kroupová V., Peksa Z., Konečný R. (2012): The Impact of high Iodine Intake on Thyroid Function in Ewes and Lambs. *Neuroendocrinology Letters*, 33(5): 517-524.
7. Dušová H., Trávníček J., Kroupová V., Staňková M., Peksa Z. (2012): The Effect of high Iodine Intake on selected Parameters of Immunity in Sheep. *Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy*, 56(4):659-662.
8. Dušová H., Trávníček J., Peksa Z., Falta D., Pálka V. (2012): Trace Element Content in Market Eggs in Bohemia. *Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendeliana Brunensis*, 60(6): 75-80.

Prohlášení spoluautorů

Všichni níže uvedení spoluautoři prohlásili, že se Ing. Zdeněk Peksa podstatným způsobem podílel na publikacích přiložených k této disertační práci. Souhlas jednotlivých spoluautorů byl elektronicky zaslán školiteli doktoranda prof. Ing. Janu Trávníčkovi, CSc. a byl ověřen Ing. Pavlem Smetanou, Ph.D.

1. prof. Ing. Jan Trávníček, CSc
2. prof. MVDr. František Jelínek, CSc. Dipl. ECVP
3. Ing. Roman Konečný, Ph.D.
4. Ing. Hana Dušová
5. MVDr. Lucie Hasoňová, Ph.D.
6. Ing. Václav Pálka
7. doc. MVDr. Martin Svoboda, Ph.D.
8. MVDr. Tomáš Baňoch, Ph.D.
9. prof. RNDr. Ing. Vlasta Kroupová, CSc.
10. Ing. Kateřina Volfová
11. Ing. Aneta Vrbová
12. Ing. Luboš Zábranský
13. Ing. Daniel Falta, Ph.D.

V zastoupení všech spoluautorů:

prof. Ing. Jan Trávníček, CSc.

Ověřil:

Ing. Pavel Smetana, Ph.D.

Histometric and biochemical properties of the thyroid gland in sheep with high iodine supplementation

Zdeněk Peksa¹, Jan Trávníček¹, Roman Konečný¹, František Jelínek², Hana Dušová¹,
Lucie Hasoňová¹, Václav Pálka¹

¹University of South Bohemia in České Budějovice, Faculty of Agriculture,
Department of Veterinary Sciences and Quality of Products, České Budějovice, Czech Republic

²Veterinary Histopathological Laboratory, Prague, Czech Republic

Received February 11, 2013

Accepted August 28, 2013

Abstract

The aim of this study was to evaluate histometric and biochemical properties of the thyroid gland of sheep supplemented with high doses of iodine. The study was conducted on ewes (n = 12) and gimmers (n = 12) of Sumava mountain sheep; each group was subdivided into two groups (group A and B) of six animals. Feed of group A was supplemented with 3 mg iodine/kg of dry matter; group B was given 5 mg iodine/kg dry matter. The iodine in feed mineral supplement was in the form of calcium iodide. The ewes were at first carrying, subsequently lambing, lactating and finally remained barren. The experiment ended after 11 months, when all animals were slaughtered and a sample of the thyroid gland was taken for histometric examination and determination of iodine content by modified colorimetric method. Prior to the slaughter, blood samples were collected for determination of thyroidal hormones and the thyroid-stimulating hormone in blood serum. Thyroid glands of sheep from group B showed higher thyroid weight, larger follicles, higher percentage of large follicles and lower follicular cells compared to groups A. Normal or lower content of triiodothyronine and thyroxine, lower content of their free fractions and bordering or elevated concentrations of thyroid-stimulating hormone were detected in blood serum of all four groups. This trend can signalize the tendency of lowering activity of the thyroid gland. The results of this long-term study show impacts of higher iodine intake on the structure and function of the thyroid gland in sheep.

Morphometric, thyroidal hormones, PCNA, epithelium, thyrocytes

The main function of the thyroid gland is the production of triiodothyronine (T₃) and thyroxine (T₄) hormones. Optimum intake of iodine influences function and structure of the thyroid. The height of the follicular cells, size of the follicles and amount and character of the colloid inside the follicles all depend on the activity of the thyroid (McGavin et al. 2001; Capen et al. 2006). Hypothyroidism caused by iodine insufficiency leads to higher production of thyroid-stimulating hormone (TSH) and subsequent proliferation of follicular cells and colloid depletion. Iodine in surplus, on the other hand, causes lowering of TSH production and accumulation of the colloid inside the follicles causing their growth. The lowered content of TSH further lowers the activity of thyrocytes and causes a decrease in epithelial cell height (Shan et al. 2009). The prolonged administration of large doses of iodine markedly reduces iodine trapping by the thyroid, thus causing antithyroidal or goitrogenic effects in many domestic and experimental animals (Radostits et al. 2000). Current importance of studying the activity of the thyroid gland in farm animals in connection with various amounts and forms of iodine in feed or varying iodine concentrations in the environment is shown in many recently published studies (Kursa et al. 2010; Baňoch et al. 2011; Dušová et al. 2012).

The aim of this study was to show the effect of long-term excessive iodine in feed on histometric and functional indicators in ewes and gimmers.

Address for correspondence:

Zdeněk Peksa
University of South Bohemia in České Budějovice
Faculty of Agriculture, Department of Veterinary Sciences and Quality of Products
Studentská 13, 370 05 České Budějovice, Czech Republic

Phone: +420 387 772 618
E-mail: peksaz@centrum.cz
http://actavet.vfu.cz

Materials and Methods

Animals and experimental design

The study was conducted on ewes ($n = 12$) and gimmers, ($n = 12$) of Sumava mountain sheep; each group was subdivided into two groups (group A and B) of six animals. Both groups A were administered 3 mg iodine per kg dry matter DM feed dose; groups B were supplemented with 5 mg iodine per kg DM (Table 1). The dose of 5 mg per kg of 88% dry matter (DM) corresponds to the higher limit permitted in the norm (Commission

Table 1. Characteristics of experimental groups of sheep.

Group	Age (months)	Body weight (kg)	Iodine in feed (mg I/kg DM)
Ewes A ($n = 6$)	76 ± 4	53.2 ± 4.5	3
Ewes B ($n = 6$)	75 ± 3	56.3 ± 4.8	5
Gimmers A ($n = 6$)	29 ± 2	59.2 ± 4.6	3
Gimmers B ($n = 6$)	28 ± 2	58.4 ± 5.4	5

DM - dry matter

Regulation of the EC No. 14/59/2005). The diet was composed of meadow hay (1500 g), oat groats (270 g) lucerne granules (240 g) and mineral supplement (9 g). Iodine in mineral feed supplement was added in the form of calcium iodide (CaI_2). The ewes were at first carrying, subsequently lambing, lactating, and finally remained barren. The experimental period started in the first month of gestation. Environmental conditions (feed, housing conditions and temperatures) before and during experimentation were similar. The experiment was ended after 11 months when all the animals were slaughtered and a sample of their thyroid gland was

taken for histometric examination and determination of iodine content. Prior to the slaughter, blood samples for determination of thyroidal hormones and the TSH in blood serum were collected. Ewes and gimmers were conducted under protocols approved by the Faculty of Agriculture, University of South Bohemia in České Budějovice and National Committees (Protocol No.2/08).

Methods

The whole thyroid gland was dissected and weighed. Samples for histological examination and samples for determining the iodine content were collected from the central part of each thyroid gland lobe. Samples were fixed in 10% neutral buffered formalin, embedded in paraffin wax, sectioned at 5 μm thick slices and stained with haematoxylin and eosin. The measurements were conducted using Leica IM 500 Version 4.0 visual analysis program and Leica DC 320 camera in combination with Leica DM 2500 microscope. The size of 60 follicles (their length and width) and the height of 20 follicular cells inside each were determined from three fields of vision in different parts of the histological section. The examined follicles were classified into three categories by length (Jelínek et al. 2003): large (175.1–615.0 μm), medium sized (80.1–175.0 μm) and small (15.0–80.0 μm) follicles. The number of positive nuclei in thyrocytes in ten different fields of vision from different parts of the section was estimated as the indicator of proliferative activity of the thyroid follicular cells. Immunohistochemical reaction PCNA (proliferation cell nuclear antigen) was performed on every sample of the thyroid gland. Histological sections were deparaffined and the activity of endogenous peroxidase was blocked by 3% peroxide (10 min) and nonspecific binding sites were blocked (1% bovine albumin for 5 min). Monoclonal mouse anti-proliferation cell antigen/clon PC10 from Dako for PCNA detection was used. For visualization the detection system Dako EnVision™ was used.

Serum concentration of triiodothyronine (T3), thyroxine (T4), and their free fraction (FT3, FT4) were measured by radioimmunoassay (IMMUNOTECH a. s., Czech Republic); concentrations of thyroid-stimulating hormone (TSH) were determined by ELISA using commercially available kit (ELISA development, s.r.o., Czech Republic). The concentration of iodine in thyroid gland was determined by modified colorimetric methods according to Bednář et al. (1964).

The obtained results were evaluated by STATISTICA 7.0. (StatSoft, Inc.) with the help of ANOVA, regression and correlation analyses ($P < 0.05$).

Results

Histometric characteristics of the thyroid gland

Thyroid glands of sheep from group B supplemented with 5 mg iodine/kg DM showed higher thyroid weight, larger follicles, higher percentage of large follicles and lower follicular cells compared to group A supplemented with 3 mg iodine/kg DM (Table 2). When comparing the thyroid gland indicators of the two groups with the same iodine supplementation, the results showed that the thyroid glands of ewes had higher weight, higher iodine content, larger follicles, lower follicular cells, and

Table 2. Thyroid gland indicators in sheep (ewes and gimmers) supplemented with iodine.

Indicator	Ewes		Gimmers	
	A	B	A	B
Weight (g)	7.5 ± 4.2 ^a	9.67 ± 0.47 ^b	3.74 ± 0.37 ^{ab}	5.10 ± 1.12 ^{ab}
Iodine (mg/kg)	1159.4 ± 382.2	1252.4 ± 400.0	396.1 ± 154.0	501.4 ± 170.6
Large follicles (%)	19.7 ± 15.2 ^c	34.9 ± 11.9 ^d	3.1 ± 1.4 ^{cd}	24.4 ± 2.2 ^{da}
Medium follicles (%)	51.0 ± 16.5 ^d	42.6 ± 9.6 ^a	39.7 ± 8.3 ^{cd}	54.4 ± 5.6 ^{cc}
Small follicles (%)	36.4 ± 12.1 ^c	23.1 ± 8.9 ^a	57.2 ± 9.6 ^{ca}	21.3 ± 7.7 ^c
Length of follicles (µm)	132.9 ± 28.4 ^c	146.8 ± 24.7 ^d	83.0 ± 11.1 ^{ca}	132.6 ± 6.2 ^{da}
Width of follicles (µm)	88.9 ± 21.3 ^c	94.5 ± 23.1 ^b	59.2 ± 8.5 ^{abc}	93.7 ± 2.3 ^a
Height of epithelium (µm)	5.7 ± 0.20 ^a	4.91 ± 0.54 ^c	6.2 ± 0.4 ^{ad}	5.4 ± 0.1 ^{cd}
Count of PCNA positive cells	3.2 ± 1.28 ^{ac}	4.8 ± 1.49 ^{bc}	16.3 ± 6.5 ^{abc}	6.3 ± 1.7 ^a

PCNA - proliferation cell nuclear antigen. Data are expressed as mean ± SD. ^{a,b} $P < 0.01$. ^{c,d} $P < 0.05$

Table 3. Correlation between selected indicators in sheep (ewes and gimmers) supplemented with iodine.

Indicator		Correlation coefficient
Average epithelium height	Average follicle size	-0.60
Count of PCNA positive cells	Percentage of large follicle	-0.47
Count of PCNA positive cells	Percentage of small follicle	0.45
Percentage of large follicle	Thyroid weight	0.73
Iodine content in the thyroid gland	Thyroid weight	-0.35

PCNA - proliferation cell nuclear antigen, n = 24, $P < 0.05$

decreased proliferating activity (Table 2). Correlations between some indicators are shown in Table 3.

Thyroid follicles of ewes contained homogenous colloid mostly without resorptive vacuoles and the epithelial cells were mostly low cuboidal. In one thyroid gland specimen from ewes of group B, a small accumulation of lymphocytes without any trace of tissue alteration was found. Follicles of the gimmers contained mostly homogenous colloid with individual resorptive vacuoles and the epithelial cells were mostly cuboidal low to cuboidal. For all gimmers and several ewes, cysts of different sizes with cornified or uncornified squamous epithelium were present in different parts of the thyroid.

Biochemical properties of the thyroid gland

The mean content of T4 and T3 and their free fractions (FT4 and FT3) as well as the content of TSH was always higher or the same for gimmers compared to ewes with the same iodine supplementation (Table 4). The most significant difference ($P < 0.01$) was found in the content of TSH between ewes and gimmers of group A and between ewes and gimmers of group B. The maximum concentration of TSH was measured for gimmers A and gimmers B.

Discussion

The mean weight of thyroid gland in ewes of both groups in our study was higher than the reported weight of animals with normal histological structure (Kratochvíl 1998). We

Table 4. The concentration of thyroidal hormones and thyroid-stimulating hormone in blood serum of sheep (ewes and gimmers) supplemented with iodine.

Indicator	Ewes		Gimmers	
	A	B	A	B
T4 (nmol/l)	60.42 ± 12.89 ^{af}	63.08 ± 11.03 ^{ec}	84.16 ± 8.08 ^{ac}	82.80 ± 11.38 ^{ef}
T3 (nmol/l)	2.55 ± 0.37 ^a	2.14 ± 0.34 ^c	2.50 ± 0.03 ^{ac}	2.37 ± 0.23
FT4 (pmol/l)	13.67 ± 1.81 ^a	13.12 ± 2.04 ^{cd}	17.26 ± 1.17 ^{ac}	16.50 ± 0.99 ^d
FT3 (pmol/l)	3.29 ± 0.35 ^a	2.91 ± 0.46 ^{cd}	3.98 ± 0.38 ^{ad}	4.66 ± 0.74 ^c
TSH (ng/ml)	0.91 ± 0.21 ^{ac}	0.97 ± 0.22 ^{db}	2.78 ± 1.01 ^{ad}	2.14 ± 1.47 ^{cb}

Data are expressed as mean ± SD. ^{a,b,c,d} $P < 0.01$; ^{e,f} $P < 0.05$

found higher iodine content in the gland of both groups of ewes compared to the two groups of gimmers. It can be connected to the longer accumulation time in the gland due to the age of the animals. They were exposed earlier to standard iodine doses or were burdened metabolically with pregnancy or nursing.

The histological picture of glands of both groups of ewes (especially for ewes of group B) in our study corresponds to lowered activity of the gland (Derycke et al. 1999; Jelínek et al. 2003). Furthermore, all indicators of lower activity were more pronounced in group B. When comparing histological pictures of ewes and gimmers with the same iodine supplementation, ewes showed signs of lower secretory activity of the thyroid according to McGavin et al. (2001).

When comparing ewes and gimmers, smaller mean size of follicles and generally higher follicular cells were demonstrated in ewes. According to Shan et al. (2009), the height of the follicular cells is an objective indicator of the thyroid gland activity. Lower proliferative activity of thyrocytes (presented in ewes by the level of PCNA) is according to Di Fulvio et al. (2000) a sign of lower activity of the thyroid gland. This fact was confirmed by correlation between count of PCNA positive cells and percentage of large or small follicles and other correlations.

When comparing the concentrations of T4, T3 FT3 and FT4 in both groups of ewes in our study, the concentration of free forms of hormones are lower according to Nazifi et al. (2008), Badiei et al. (2010) or Eshratkhah et al. (2011). Concentrations of hormones found in both groups of ewes corresponded to lowered activity of the thyroid gland as demonstrated by histological findings, too. Average values of TSH approached 1 ng/ml for both ewe groups in our study. In humans, this concentration would indicate euthyroid state with possible first signs of dysfunctions but so far without any clinical impact (Obregon et al. 2005). Concentrations of T3 and T4 in gimmers were similar to values mentioned in literature. Contents of FT3 and FT4 were in ewes lower than those given by for example Nazifi et al. (2008) or Badiei et al. (2010). Individual maximum values that over-exceeded 3.5 ng/ml in both groups of gimmers would imply latent hypothyroidism in humans. Higher values of TSH and simultaneous lower or normal concentrations of FT3 and FT4 would diagnostically indicate hypothyroidism or subclinical hypothyroidism (Šlebodziňsky 1994; Racek et al. 2006).

The presented data show the effects of the highest permitted iodine dose on histometrical and biochemical properties of the thyroid gland. The results demonstrate a decrease of thyroid function in animals with higher iodine intake. According to Ruffin et al. (2012), lower thyroid function negatively influences production and reproduction in sheep. For this reason they recommend optimization of iodine dosage in sheep at value 0.5–0.8 mg I per kg dry matter (NRC, 2007).

Acknowledgements

This work was supported by the project of the Grant Agency of the University of South Bohemia in České Budějovice (GAJU 011/2013/Z) and the grant of Ministry of Agriculture of the Czech Republic NAZV QH 81 105.

References

- Badie K, Mostaghni K, Nikghadam P, Pourjafar M 2010: The effect of mercury on thyroid function in sheep. *Int J Vet Res* 4: 277-281
- Baňoch T, Fajt Z, Kuta J, Kotrbáček V, Konečný R, Trávníček J, Svoboda M 2011: Utilisation of iodine from different sources by sows and their progeny. *Neuroendocrinol Lett* 32: 510-517
- Bednář J, Röhling S, Vohnout S 1964: Contribution to the determination of protein iodine in bod serum (in Czech). *Cesk Farm* 13: 203-209
- Capen CC 2006: Thyroid gland. In: Maxie MG (Ed.): *Jubb, Kennedy and Palmer's pathology of domestic animals*. Fifth edition, Elsevier, Philadelphia, pp. 379-406
- Derycke G, Mabon N, Mandiki SNM, Bister JL, Wathelet JP, Marlier M, Paquay R 1999: Chemical changes and influences of rapeseed antinutritional factors on lamb physiology and performance: 1. Animal performance and thyroid histology. *Anim Feed Sci Techn* 81: 81-91
- Di Fulvio M, Coleoni AH, Pellizas CG, Masini-Repiso AM 2000: Tri-iodothyronine induces proliferation in vulture bovine thyroid cells: Evidence for the involvement of epidermal growth factor associated tyrosine kinase activity. *J Endocrinol* 166: 173-182
- Dušová H, Trávníček J, Svoboda M, Baňoch T, Kroupová V, Peksa Z, Konečný R 2012: The impact of high iodine intake on thyroid function in ewes and lambs. *Neuroendocrinol Lett* 33: 517-524
- Eshratkhah B, Sadaghian M, Eshratkhah S, Pourrabbi S, Najafian K 2010: Relationship between the blood thyroid hormones and lipid profile in Moghani sheep: influence of age and sex. *Comp Clin Path* 19: 15-20
- Jelínek F, Krabačová I, Kroupová V 2003: Assessment of functional activity of the bovine thyroid gland using morphometry, and two markers of cellular proliferation. *Acta Vet Brno* 72: 651-662
- Kaufmann S, Kursá J, Kroupová V, Rambeck WA 1998: Iodine in milk by supplementing feed: An additional strategy to erase iodine deficiency. *Vet Med-Czech* 43: 173-178
- Kratochvíl P 1998: Morphological and functional changes of the thyroid gland in different breeding conditions (in Czech). Dissertation, University of South Bohemia in České Budějovice, 175.
- Kursá J, Herzig I, Trávníček J, Illek J, Kroupová V, Fusková S 2010: Iodine and selenium contents in skeletal muscles of red deer (*Cervus elaphus*), roe deer (*Capreolus capreolus*) and wild boar (*Sus scrofa*) in the Czech Republic. *Acta Vet Brno* 79: 403-407
- McGavin DM, Carlton WW, Zachary JF 2001: *Thomson's special veterinary pathology*. Mosby, St. Luis, 755 p.
- Nazifi S, Seab M, Abangah E, Karimi T 2008: Studies on the relationship between thyroid hormones and some trace elements in the blood serum of Iranian fat-tailed sheep. *Vet Arhiv* 78: 159-165
- NRC (National Research Council) 2007: *Nutrient requirements of small ruminants (sheep, goats, cervids, and new world camelids)*. National academic press, Washington DC, 384 p.
- Obregon MJ, Del Rey FE, De Escobar GM 2005: The effects of iodine deficiency on thyroid hormone deiodination. *Thyroid* 15: 917-929
- Radostits O, Gay C, Blood D, Hinchcliff K, Arundel J, Jacobs D, Leslie K, Ikede R, McKenzie R, Bildfell D 2000: Diseases caused by deficiencies of mineral nutrients. In: Radostits O, Gay C, Blood D, Hinchcliff K (Eds): *A textbook of diseases of cattle, sheep, pigs, goats and horses*. Saunders, London, pp. 1480-1514
- Racek J, Eiselt J, Holeček V, Nekudová M, Pittrová H, Rušavý Z, Senft V, Šavlová M, Těšínský P, Verner M 2006: *Clinic Biochemistry (in Czech)*. Galén, Praha, 317 p.
- Ruffin DC, Christman U, Pugh DG 2012: Endocrinology system. In: Pugh DG, Baird AN (Eds): *Sheep and Goat Medicine*. Second edition, Elsevier, Philadelphia, pp. 234-289
- Shan Z, Teng W, Lai Y 2009: Experimental studies on the effect of excessive iodine supplementation on the thyroid tissue. In: Preedy VR, Burrow GN, Watson RR (Ed.): *Comprehensive handbook of iodine*. Academic Press, London, pp. 877-887
- Šlebodziňský A 1994: The thyroid gland. In: Döcke F (Ed.): *Veterinary Endocrinology (in German)*. Third Edition, Fischer Verlag Jena, Stuttgart, pp. 128-168

THE EFFECT OF IODINE AND STRUMIGENS LONG-TERM FOODBORNE INTAKE ON HISTOMETRICAL PARAMETERS OF THYROID GLAND IN GIMMERS

Zdeněk Peksa, Jan Trávníček, Roman Konečný, František Jelínek, Hana Dušová,
Kateřina Volfová, Aneta Vrbová, Luboš Záborský, Daniel Falta, Václav Pálka

Received: May 20, 2013

Abstract

PEKSA ZDENĚK, TRÁVNÍČEK JAN, KONEČNÝ ROMAN, JELÍNEK FRANTIŠEK, DUŠOVÁ HANA, VOLFOVÁ KATEŘINA, VRBOVÁ ANETA, ZÁBRANSKÝ LUBOŠ, FALTA DANIEL, PÁLKA VÁCLAV: *The effect of iodine and strumigens long-term foodborne intake on histometrical parameters of thyroid gland in gimmers.* Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis, 2013, LXI, No. 5, pp. 1365–1369

In 2010 and 2011 two experiments on gimmers of Šumava mountain sheep were performed. The first experiment was carried out on 12 animals (experimental period was 11 months); control group was fed with 3 mg I*kg⁻¹ in dry matter per day and experimental group was fed with 5 mg I*kg⁻¹ in dry matter per day. The second experiment lasted 10 months and it was carried out on 12 animals. Feed ration for control group contained 10 mg I*kg DM⁻¹. Feed ration for experimental group contained 10 mg I*kg DM⁻¹ too; moreover it included rapeseed meal and 1g of sodium nitrate. The aim of the first experiment was focused on impact of high iodine intake on structure of thyroid gland. The aim of the second experiment was to discover effect of strumigens during high iodine intake on structure of thyroid gland. The animals were slaughtered after the experiment and there was executed the dissection of thyroid gland. The samples of thyroid gland were processed during classic paraffin method and dyed with haematoxylin and eosin. For finding of histometrical parameters was used program Leica IM 500 Version 4.0. The length, the width and the area of follicles were measured. The follicles were divided into three groups after this procedure (by the length); in each group were measured 20 thyrocytes. In group with intake 5 mg I*kg DM⁻¹ (experiment from year 2010): higher weight of thyroid ($p < 0.01$), significant higher ($p < 0.05$) proportional representation of large and medium follicles, significantly ($p < 0.05$) higher average size of follicles, demonstrably lower ($p < 0.05$) height of epithelium were found. There were not found any differences in monitored parameters between the groups from experiment which was carried out during the year 2011. After comparing results from the both experiments significantly higher percentage representation of large follicles a significantly lower representation of small follicles, distinctly higher average size and higher height of epithelium in all size categories, in groups with iodine intake 10 mg I*kg DM⁻¹ was found (from second experiment – year 2011).

follicle, epithelium, thyrocyte, rapeseed meal, nitrates, morphometry

Thyroidal hormones crucial affect the whole metabolism of organism. Iodine intake from the environment is the critical factor, which influences function of thyroid gland. The thyroid gland in sheep is in region of the first tracheal ring, thyroid

is formed from two lobes, which are connected by *istmus*. Normal thyroid weight is approximately 3–7 grams in adult sheep (Kratochvíl, 1998). The long-term insufficient or superfluous iodine intake may be reflected on function and structure of thyroid

gland. The long-term lack of iodine caused: decrease of production thyroidal hormones -thyroxine and triiodothyronine, growing of epithelial cells, reduction of follicles size and growing of gland weight (Kratochvíl, 1998). The long-term high iodine intake caused hyper function of thyroid gland at the young age (later to hypo function, due to reduced production of TSH – thyroid stimulating hormone). There was found relationship with development of autoimmune disease of thyroid gland in human (Burgi, 2010; Guan *et al.*, 2009; Dal Maso *et al.*, 2009; Knobel and Medeiros-Neto, 2007). Thyroidal hormones influence production (milk yield, intensity of growth, growth wool) and reproduction of animals (Pugh and Baird, 2012). The impact of iodine excess on thyroid structure may be reflected in reduce of height of thyrocytes, an increase of follicles size due to accumulation of colloid. The weight of thyroid is usually lower, in some cases the weight of thyroid gland grows due to accumulation of colloid (colloid goitre) (Deborah and Stabenfeldt, 2007; Zachary and McGavin, 2011).

The aim of this work was focused on influence of long term foodborne high intake of iodine and strumigens on structure and others parameters of thyroid gland.

MATERIAL AND METHODS

In 2010 and 2011 two experiments on barren gimmers of Šumava mountain sheep breed were performed. Animals from both experiments were come from the same breed and were bred in the same conditions. The both experiment group were fed with experimental feeding mixture and *ad libitum* hay. Animals were (12 barren gimmers) burdened with high iodine foodborne intake during 11 months in year 2010. The control group (group A) received 3 mg I*kg DM⁻¹ and experimental group (group B) received 5 mg I*kg DM⁻¹. Average body weight was 74–88 kg and average age was 24 months. The second experiment (in year 2011) was carried out on 12 animals and experimental time was 10 months. The control group (group C) received feeding mixture 10 mg I*kg DM⁻¹, the experimental group (group D) was fed with mixture with the same iodine concentration, moreover the experimental feeding mixture rape seed meal and sodium nitrate (1g per head and day). The aim of this experiment was focused on the impact of strumigens (glukosinolates

and sodium nitrate) on structure of thyroid gland by high iodine intake.

The animals were slaughtered in slaughterhouse after experiment, the thyroid glands were dissected, weighted and samples for histological examination were fixed in 10% neutral buffered formalin, embedded in paraffin wax, sectioned at 5 µm thick slices and stained with haematoxylin and eosin.

Histometrical measurement was carried in program for image analysis Leica IM 500 Version 4.0., (in combination with camera Leica DC 320 and microscope Leica DM 2500). The length, the width and the area of 60 follicles were measured in three visual fields (from different parts of slice). Measured follicles were divided into three categories (Jelínek *et al.*, 2003): large (175.1–615.0 µm), medium (80.1–175.0 µm), small (15.0–80.0 µm). The proportion of these categories was found. Dates were processed in program STATISTICA 7.0. (StatSoft, Inc.), Anova and regression and correlation analysis were used.

RESULTS

There are mentioned the values of thyroid weight and relative thyroid weight (Tab. I). The lowest thyroid weight was achieved in group A. The differences to group B were significant. Between groups C and D were not observed distinct variations.

In Fig. 1 percentage representation size categories of follicles in particular groups of animals are illustrated. It was found statistically important differences ($p < 0.01$) between groups A and B in all size categories of follicles. Groups C and D were not different in these parameters. After comparing all the groups the differences in percentage representation of large and small follicles were found.

The lowest average follicle sizes were found in group A; the differences to group B were found in all monitored parameters (the length, the width, the area of follicles). Differences between groups C and D were not apparent. Only average areas of follicles were lower in group D, the difference to group C was not significant. When we drew a comparison dates between both experiments, sizes of follicles were significantly bigger by group C and D (compared to groups A and B).

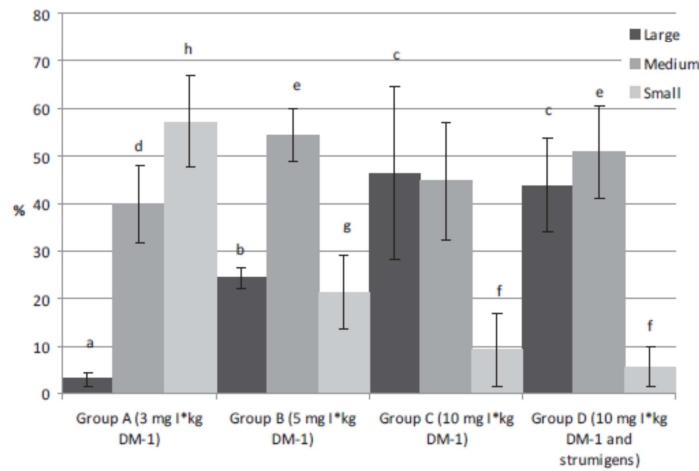
Differences ($p < 0.05$) in high of follicular epithelium were found between groups A and B in category of large follicles and in total average size

I: Average thyroid weight and relative thyroid weight in barren gimmers

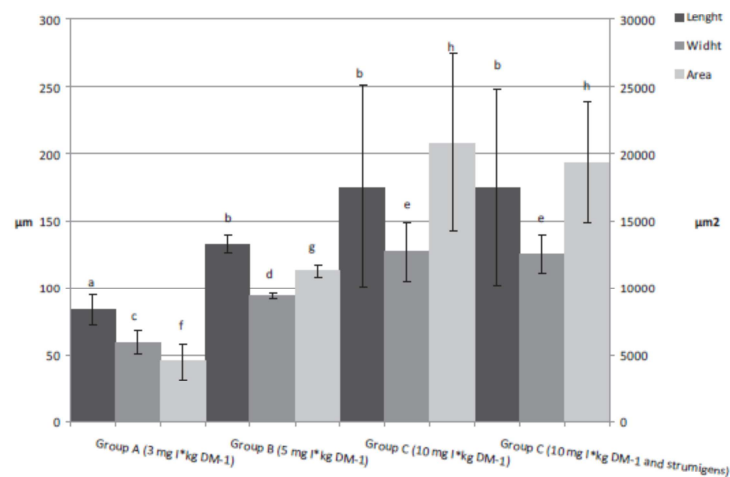
Group	n	Iodine intake (mg I*kg DM ⁻¹)	Thyroid weight (g)	Relative thyroid weight (%)
A	6	3	3.74 ± 0.37 ^a	0.0050 ± 0.0005
B	6	5	5.10 ± 1.12 ^b	0.0057 ± 0.0009
C	6	10	4.89 ± 0.79	0.0108 ± 0.0018
D	6	10*	4.60 ± 1.10	0.0110 ± 0.0026

*experimental feeding mixture was contained rape seed meal and 1g sodium nitrate per head and day

^{a,b} $p < 0.01$



1: Percentage representation of follicle size categories
 $a, b, c, d, e, f, g, h; p < 0.01, d, e, f, g, h; p < 0.05$



2: Average length, width and area of follicles
 $a, b, c, d, e, f, g, h; p < 0.01$

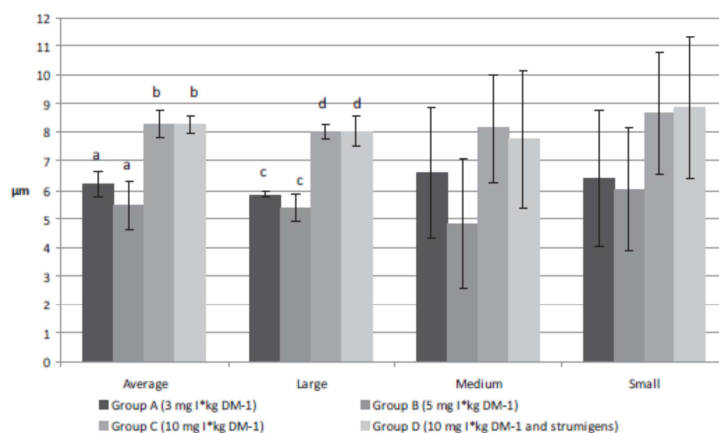
of follicles. The difference was not significant in medium and small follicles. The high of epithelium in groups C and D was not differed in any size category of follicles.

In groups from the second experiment (year 2011, group C and D) significantly higher epithelium in all size categories of follicles was found (in comparison with groups from experiment from 2010 – groups A and B).

DISCUSSION

Thyroid weight (Tab. I) in all groups corresponded with values, which was published by Kratochvíl

(1998). In group D, which was fed with experimental feed mixture with strumigens, was not found any manifestation of goitre or others anomalies, which described Kursá *et al.* (2000). Thyroid weight, in this cause, was not affected by strumigens, as state Trávníček *et al.* (2001). Significantly higher percentages representation of small follicles (Fig. 1) and concurrently bigger height of epithelium (Fig. 3) in group A (compared to group B) is according to Jelínek *et al.* (2003) the sign of higher metabolic activity. The author documented this fact using increase proliferative activity of thyrocytes in small follicles in cattle. Information about sizes of thyroidal follicles in barren gimmers is presented



3: Height of thyrocytes in particular size categories of follicles
^{a,b,c,d} $p < 0.01$

mainly in elder publications. Salem *et al.* (1986) stated average size of follicles 55–70 µm and maximal size 160 µm. This fact approximately responds with our data from group A (Fig. 2). Richter (1989) considered as normal size of follicles 25–230 µm. Kratochvíl (1998) stated for gimmers with normal histological structure size of follicles on average 103.42–145.06 µm. Differences were not found (Fig. 3) in height of epithelium in comparison with others authors in any groups. The height of epithelium is, by Krabačová (2003), very responsive indicator of thyroid activity. The author stated, that height of thyrocytes by sheep with normal histological structure is in average 5.23–7.06 µm. Kratochvíl (1998) stated values about 8.5–9 µm. Distinctly higher size of epithelial cells in groups C and D (in comparison with group A and B) were effected on high dose of iodine (res. iodide). Ganong (2005) stated inhibitive impact on organification of iodide and thus on synthesis of hormones (Wolff-Chaikoff effect).

CONCLUSIONS

Group B had higher thyroid weight ($p < 0.01$) in comparison with group A. In comparison with literary data any difference was not found. Group B had strongly higher percentage representation of large and medium follicles, on the other hand the count of small follicles was significantly lower ($p < 0.05$) in comparison with group A. Group B had significantly higher size of follicles and lower average height of thyrocytes and height of thyrocytes in category of large follicles ($p < 0.05$). This fact according to the same authors is the sign of lower thyroid function. Strumigenous effect was not occurred at group D. Significant difference was not found in monitored parameters between groups C and D. Animals from experiment from 2011 had high number of large follicles and distinctly lower number of small follicles, higher average size of follicles, in comparison of the both experiments.

SUMMARY

The aims of two experiments were focused on the effect of different high iodine dosage and strumigens on structural parameters of thyroid gland in barren gimmers of Šumava mountain sheep. Control group in the first experiment (experimental time was 11 months) was fed with 3 mg I/kg DM⁻¹ and experimental group was fed with 5 mg I/kg DM⁻¹. Both groups in the second experiment were fed with 10 mg I/kg DM⁻¹, but feeding mixture for experimental group contained strumigens (rape seed meal and 1g of sodium nitrate per head and day). The animals were slaughtered after ending of the experiment and dissection of the thyroid gland was found. The samples of the thyroid were processed by classic paraffin histological method and dyeing by haematoxylin and eosine was used. Histometrical parameters (the length, the width and the area of follicles and the height of epithelial cells) were determined to using program for image analysis. Differences between groups from the first experiment (the iodine intake 3 and 5 mg I/kg DM⁻¹) were found in thyroid weight, percentage representation of size follicles categories, average follicle size and average height of epithelium and height of epithelium in large follicles. Between groups from the second experiment any distinct difference in monitored parameters was not found. Significant differences were found in percentage representation of large and small follicles, average size of follicles and in height of epithelial cells, when we compared data from both experiments.

Acknowledgement

This work was supported by grant NAZV QH 81 105, GAJU 011/2013/Z and IGA AF MENDELU TP 2/2013.

REFERENCES

- BURGI, H., 2010: Iodine excess. *Best. Pract. Res. Cl. En.*, 24, 1: 107–115. ISSN 1654-6628.
- DEBORAH, S. G., STABENFELDT, G. H., 2007: *Endocrine system* (In): CUNNINGHAM, J. G., KLEIN, B. G., (Ed): *Textbook of Veterinary physiology*, 3rd ed., Philadelphia: Saunders, 410–463 p. ISBN 13: 978-0721689944.
- DAL MASO, L., BOSETTI, C., LA VECCHIA, C., FRANCESCHI, S., 2009: Risk factors for thyroid cancer: an epidemiological review focused on nutritional factors. *Cancer Cause Control*, 20, 1: 75–86. ISSN 0957-5243.
- GANONG, W. F., 2005: *Review of Medical Physiology*. 22th ed., San Francisco: McGraw-Hill, 912 p. ISBN 0071440402.
- GUAN, H. X., JI, M., BAO, R., YU, H. Y., WANG, Y. G., HOU, P., ZHANG, Y., SHAN, Z. Y., TENG, W. P., XING, M. Z., 2009: Association of High Iodine Intake With the T1799A BRAF Mutation in Papillary Thyroid Cancer. *J. Clin. Endocr. Metab.*, 94, 5: 1612–1617. ISSN 1945-7197.
- JELÍNEK, F., KABAČOVÁ, I., KROUPOVÁ V., 2003: Assessment of functional activity of the bovine thyroid gland using morphometry and two markers of cellular proliferation. *Acta Vet. Brno*, 72, 1: 11–16. ISSN 0001-7213.
- KRATOCHVÍL, P., 1998: *Morfologické změny štítné žlázy zvířat v různých chovatelských podmínkách*. České Budějovice: Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích. Disertační práce, Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Zemědělská fakulta, Katedra anatomie a fyziologie hospodářských zvířat, 175 s.
- KRABAČOVÁ, I., 2002: *Morfologické a funkční změny štítné žlázy při různé saturaci hospodářských zvířat jódem*. České Budějovice: Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích. Disertační práce, Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Zemědělská fakulta, Katedra anatomie a fyziologie hospodářských zvířat, 120 s.
- KNOBEL, M., MEDEIROS-NETO, G., 2007: Relevance of Iodine Intake as a Reputed Predisposing Factor for Thyroid Cancer. *Arq. Bras. Endocrinol. Metab.*, 51, 5: 701–712. ISSN 0163-0720.
- KURSA, J., TRÁVNÍČEK, J., RAMBECK, W. A., KROUPOVÁ, V., VÍTOVEC, J., 2000: Goitogenic effects of extracted rapeseed meal and nitrates in sheep and their progeny. *Czech Vet. Med.*, 45, 5: 129–140. ISSN 0375-8427.
- PUGH, D. G., BAIRD, A. N., 2012: *Sheep and Goat Medicine*, 2nd ed., Missouri, Maryland Heights: Saunders, 640 p. ISBN-13: 978-1437723533.
- RICHTER, P., 1989: *Vergleichende, morphologische Studie an der Glandula thyroidea der Mammalia unter Berücksichtigung von Form, Größe, Lage, Gefäßversorgung, Innervation und histologischen Aufbau*. Giessen: Justus-Liebig-Universität Giessen. Dissertation, Justus-Liebig-Universität Giessen, 257 p.
- SALEM, I. A., KAMEL, G., ALI, A. M. A., HASSAN, A. H. S., SELIM, A. A. A., 1986: Quantitative histological studies on the thyroid gland of ewe during estrus cycle and pregnancy. *Assiut Vet. Med. J.*, 17, 34: 45–51. ISSN 1413-9596.
- TRÁVNÍČEK, J., KROUPOVÁ, V., KURSA, J., ILLEK, J., THER, R., 2001: Effect of rapeseed meal and nitrates on thyroid function in sheep. *Czech J. Anim. Sci.*, 46, 1: 1–10. ISSN 1212-1819.
- ZACHARY, J. F., MCGAVIN, M. D., 2011: *Pathologic basis of Veterinary Disease*, 5th ed., St. Louis, Missouri: Mosby press, 1322 p. ISBN 13: 978-0323075336.

Address

Ing. Zdeněk Peksa, prof. Ing. Jan Trávníček, CSc., Ing. Roman Konečný, Ph.D., Ing. Hana Dušová, Ing. Luboš Záborský, Ing. Václav Pálka, University of South Bohemia, Faculty of Agriculture, Department of Veterinary Disciplines and Quality of Products, Studentská 13, 370 05 České Budějovice, Czech Republic, prof. MVDr. František Jelínek, CSc., Dipl. ECVP, Veterinary Histopathological Laboratory, Sojovická 16, 197 00 Prague 19, Czech Republic, Ing. Kateřina Volfová, Ing. Aneta Vrbová, University of South Bohemia, Faculty of Agriculture, Department Animal Husbandry, Studentská 13, 370 05 České Budějovice, Czech Republic, Ing. Daniel Falta, Ph.D., Mendel University in Brno, Faculty of Agronomy, Department of Animal Breeding, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic, e-mail: peksaz@centrum.cz, Falta.Daniel@seznam.cz.

ORIGINAL ARTICLE

Morphological and histometric parameters of the thyroid gland in slaughter cattle

Zdeněk Peksa, Jan Trávníček, Hana Dušová, Roman Konečný, Lucie Hasoňová

University of South Bohemia, Faculty of Agriculture, České Budějovice, Czech Republic

Received: 11th March 2011

Revised: 14th July 2011

Published online: 22nd August 2011

Abstract

The study presents an evaluation of morphological and histometric parameters of the thyroid gland of slaughtered cattle (29 cows, 10 bulls, 7 heifers and 4 calves). The thyroid gland of bulls contained 34.7% of large follicles while their content in cows and heifers was 32.6% and only 19.2%, respectively. The average follicle length was $162.0 \pm 19.8 \mu\text{m}$ in bulls, $153.5 \pm 24.8 \mu\text{m}$ in cows and $122.4 \pm 10.1 \mu\text{m}$ in heifers. The highest thyrocytes were found in heifers and bulls (9.45 ± 1.17 and $9.42 \pm 1.50 \mu\text{m}$, respectively) and the lowest in cows ($8.46 \pm 2.13 \mu\text{m}$). A positive relationship was determined between the iodine content of the thyroid gland and the percentage of large follicles ($r = 0.55$) while the relationship between iodine content and thyrocyte height was negative ($r = -0.21$). In the thyroid gland of older cows medium and large follicles with low cubic to flat thyrocytes were dominant. Some follicles contained necrotic thyrocytes and the cytoplasm contained lipofuscin. The results suggest the influence of an increased iodine content in the thyroid gland on follicle size and thyrocyte height.

Key words: morphometry; thyroid gland; follicle; thyrocytes; iodine; histopathology

INTRODUCTION

The production of thyroid hormones, thyroxine (T₄) and triiodothyronine (T₃), is completely influenced by iodine intake. Optimum iodine

saturation of humans and animals is a crucial problem, mainly in areas where its content in the soil is low (Vitti et al. 2001). The prophylaxis of iodine deficiency is aimed at supplemental iodine intake (Kaufmann et al. 1998). Disorders of the thyroid hormone production conditioned by disproportionate iodine intake are manifested by either hypothyreosis or hyperthyreosis. Worldwide hypothyreosis caused by direct or secondary iodine deficiency is among the most frequent disorders of thyroid activity. The high content of iodine in mineral supplements for dairy cows has recently been reflected in its pronounced increase in milk and dairy products (Kursa et al. 2004, Herzig et al. 2005, Trávníček

✉ Zdeněk Peksa, University of South Bohemia, Faculty of Agriculture, Department of Veterinary Sciences and Quality of Products, Studentská 13, 370 05 České Budějovice, Czech Republic

✉ peksaz@centrum.cz

et al. 2006) which pose risks, along with other iodine sources, of superfluous iodine intake also in humans (Zamrazil et al. 2007). The consequences of disproportionate iodine intake can be assessed from morphological parameters and the histological structure of the thyroid gland (Teng et al. 2009).

The thyroid gland of cattle is composed of two cone-like lobes connected via the isthmus in the region of the 2nd tracheal ring (Černý 2002). The weight of the thyroid in adult cattle is between 20 and 35 g (Marvan et al. 1992), and between 15 and 65 g according to Čada (1998) or Kratochvíl (1998). Weights around 12–34 grams are reported in calves and young cattle (Kratochvíl 1998). The microscopic structure is composed mostly of spherical follicles that are lined by glandular epithelial cells (thyrocytes). The size and shape of the above-mentioned structures vary in dependence on the thyroid activity. According to Kratochvíl (1998) and Krabačová (2002) the average follicle size in cows is between 130 and 150 µm and the thyrocyte height is 7–11 µm. Where there is a goitre, a follicle size of 111–120 µm and thyrocyte height of 14–22 µm have been reported (Kratochvíl 1998).

The objective of the present study is to evaluate the histometric parameters of the thyroid gland of slaughtered cattle and the influence of iodine content in the thyroid gland on the parameters studied.

Hypothesis: The amount of received iodine, which is the manifested concentration of iodine in the thyroid gland, is reflected in the structure of the thyroid gland of animals.

MATERIAL AND METHODS

Thyroid glands were collected from 29 cows, 10 bulls, 7 heifers and 4 calves. Table 1 shows the average live weight of these animals. The thyroid glands were acquired immediately after slaughter, they were weighed and their volume was determined in the cows and bulls. Samples for histometric and histological examination were taken from the central part of the right lobe of the thyroid gland, they were fixed in 10% buffered formalin and subsequently treated by a conventional paraffin method, stained with haematoxylin and aqueous eosin. To measure histometric parameters the Leica IM 500 Version 4.0 programme for image processing and evaluation, and the Leica DC 320 camera in combination with Leica DM 2500 microscope

were used. A total of 60 follicles were examined in three fields of vision from different parts of the preparation. Follicle length, width and area were measured (Fig. 1). The height of 20 thyrocytes was also measured in each field of vision. The examined follicles were divided into 3 size categories (Jelinek et al. 2003) and their percentages were expressed as: large (175.1–615.0 µm), medium (80.1–175.0 µm) and small follicles (15.0–80.0 µm). The iodine content in the thyroid gland was determined by a modified colorimetric method (Sandell and Kolthoff) after alkaline ashing of the material (Bednár et al. 1964). All results are expressed as mean ± (SD). Significance was assessed by using the one way analysis of variance (ANOVA) and analysis of regression and correlation. All data were analyzed using Statistica CZ 7 software (StatSoft Inc.).

RESULTS AND DISCUSSION

The weight of the thyroid gland of slaughtered cattle (Table 1) ranged from 16.4±4.2 g (calves) to 47.2±23.3 g (cows). The lowest individual weight was found out in a calf (10.5 g), the highest in a cow (122.8 g). The thyroid weight in cows was characterised by high variability (coefficient of variation 49.4%) that was related with differences in the live weight (406–801 kg) and age (from 27 to 126 months) of slaughtered cows. The relationship between thyroid weight and live weight of animals and their age was confirmed by correlation coefficients (Table 6). Average weights of the thyroid gland were in the range reported by Kratochvíl (1998) while maximum values in cows and bulls exceeded this range. The correlation between live weight and thyroid volume was high: in cows $r = 0.99$ and in bulls $r = 0.92$.

Table 2 shows the percentages of thyroid follicles according to their size. The thyroid gland of bulls and cows contained the highest proportion of large follicles (34.7% and 32.6%, respectively) while heifers had the lowest proportion of these follicles (19.2%). In contrast, the percentage of small follicles was highest in heifers. The thyroid glands of the cows we examined contained 5% more large follicles than was reported by Jelinek et al. (2003). The thyroid follicles of bulls showed the longest linear dimensions (length and width of follicles) and the largest area (Table 3). The follicles of heifers had the smallest dimensions. Compared to Kratochvíl's (1998) data the follicles of cows were longer by 10% and wider by 6%.

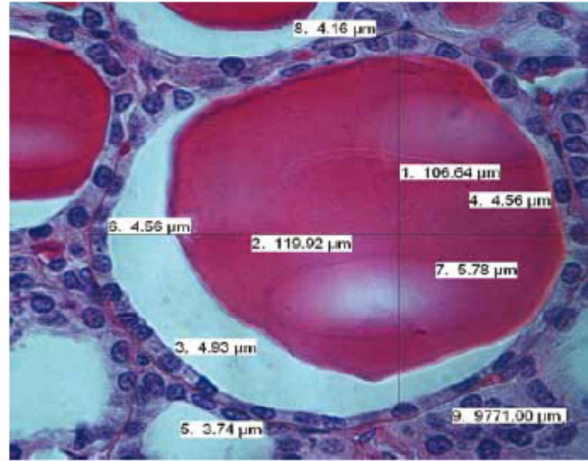


Fig. 1. Measurement of histometrical parameters

Table 1. Thyroid weight and volume in cattle

Category	n	Weight of animal (kg)	Thyroid volume (cm ³)	Weight of thyroid gland (g)					Relativ weight (%)
				Mean	SD	Max.	Min.	Median	
Cows	29	552±102	52.9±37.5 ¹	47.2 ²	23.3	122.8	24.2	42.4	0.0086
Bulls	10	705±215	30.0±7.1 ²	43.6	12.2	65.7	24.4	44.3	0.0062
Heifers	7	443±68		37.3 ⁴	5.3	45.6	20.9	38.8	0.0084
Calves	4	107±6		16.4	4.2	19.4	10.5	19.3	0.0153

^{1,2} P<0.01, ^{3,4} P<0.05

Table 2. Percentage of follicles according to their size

Category	n	Large follicles (%)	Medium follicles (%)	Small follicles (%)
Cows	29	32.6±12.9	39.7±10.2	27.7±15.9
Bulls	10	34.7±6.2	45.8±10.4	17.8±10.2
Heifers	8	19.2±7.6	47.3±10.9	33.4±12.2
Calves	4	31.2±19.2	40.4±11.8	28.3±16.1

Table 4 shows the average height of follicular cells (thyrocytes). The highest thyrocytes were measured in heifers and bulls (9.45±1.17 μm and 9.42±0.51 μm, respectively) and the lowest in cows (8.46±2.13 μm). Compared to data reported by Kratochvíl (1998), the average height of thyrocytes we determined in cows and bulls was lower by 28.9% and 14.6%, respectively, but in

heifers and calves it was larger by 18% and 8%, respectively. Jelinek et al. (2003) reported lower values of the height of follicular cells: 7.06 μm in the large follicles and 8.39 μm in the small ones. Consistently with the findings of Krabačová (2003) the thyrocyte height decreased in the order of large, medium and small follicles.

Table 3. Average follicle size and area of the thyroid gland

Category	n	Length of follicles (µm)	Width of follicles (µm)	Area of follicles (µm ²)
Cows	29	153.5±24.8 ¹	104.2±24.2	17276±9147
Bulls	10	162.0±19.8 ³	114.5±18.7	18431±5 292
Heifers	8	122.4±10.1 ²	84.6±12.8	9736±2468
Calves	4	148.0±55.7 ⁴	98.5±25.8	14451±6654

^{1,2,3,4} P<0.01

Table 4. Average height of epithelium (µm)

Category	n	Mean	SD	Max	Min	Median
Cows	29	8.46	2.13	15.09	4.97	9.24
Bulls	10	9.42	1.50	12.66	6.98	8.99
Heifers	7	9.45	1.17	11.11	7.64	9.29
Calves	4	9.07	0.51	9.67	8.40	9.10

Table 5. Iodine content in thyroid gland (mg kg⁻¹) in dry matter

Category	n	Mean	SD	Min	Max
Cows	10	1463.4	940.9	418.8	3890.4
Bulls	8	1192.0	451.1	523.0	1683.6
Heifers	4	591.4	171.0	351.0	794.4
Calves	4	1372.8	597.3	358.0	1848.0

Table 6. Correlation coefficients among the parameters of the thyroid gland of cattle

Parameters	n	Corelation coefficient
Weight of thyroid gland (g) : Size of thyroid gland (cm ²)	26	0.99
Animal weight (kg) : Weight of thyroid gland (g)	26	0.46
Animal age (months) : Weight of thyroid gland (g)	26	0.55
Iodine content in thyroid gland (mg kg ⁻¹) : Weight of thyroid gland (g)	20	-0.20
Iodine content in thyroid gland (mg kg ⁻¹) : Follicles length (µm)	20	0.16
Iodine content in thyroid gland (mg kg ⁻¹) : Follicles width (µm)	20	0.14
Iodine content in thyroid gland (mg kg ⁻¹) : Follicles area (µm ²)	20	0.30
Iodine content in thyroid gland (mg kg ⁻¹) : Height of epithelium (µm)	20	-0.21
Iodine content in thyroid gland (mg kg ⁻¹) : Percentages of large follicles (%)	20	0.52
Iodine content in thyroid gland (mg kg ⁻¹) : Percentages of medium follicles (%)	20	-0.12
Iodine content in thyroid gland (mg kg ⁻¹) : Percentages of small follicles (%)	20	-0.52

The highest iodine content in the thyroid gland was found in cows and calves and the lowest in heifers (lower by 66%) (Table 5). Positive correlation coefficients were calculated

between iodine content in the thyroid gland and the percentage of large follicles (r = 0.52) and the follicle area (0.30). Negative correlation coefficients between iodine content in the thyroid

gland and the percentage of small follicles ($r = -0.52$) and thyrocyte height ($r = -0.21$) were found. Iodine content in the thyroid gland can be considered as an indicator of its intake from feed (Teng et al. 2009).

The histological examination of thyroid glands in cows did not prove any serious pathological changes. In the thyroid glands of cows at 4–12 years of age, follicles of different size (small, medium and large or huge ones) were intermingled while medium and large follicles prevailed. The colloid was homogeneous, eosinophilic, and there were resorption vacuoles in solitary follicles. Thyrocytes in small and medium follicles were of cubic to high cubic shape, in large follicles they were of low cubic to flat shape. The cytoplasm was bright, dilated endoplasmic reticulum, in some thyrocytes there were deposits of yellow-brown pigment – susp. lipofuscin.

Necrotic thyrocytes were observed in some follicles. Small and very small follicles prevailed in the thyroid gland of cows at 2–3 years of age. The colloid was homogeneous, eosinophilic, and there were resorption vacuoles in a portion of follicles. In follicles of all sizes thyrocytes were of cubic, high cubic to cylindrical shape. Some follicles contained a higher or lower number of necrotic thyrocytes. A dilated endoplasmic reticulum was found in the cytoplasm, and there were colloid droplets in solitary thyrocytes.

The presence of lipofuscin in the thyroid gland is associated with age of the animal. Cubic and high cubic thyrocytes present in large follicles indicate an intensive metabolic activity similarly to the bright cytoplasm containing a dilated endoplasmic reticulum. A high metabolic activity is also proved by the presence of very small and small follicles. The finding of necrotic thyrocytes is difficult to interpret. Changes of this type are called 'idiopathic atrophy of follicles' in the literature. The loss of follicular epithelium and substitution of adipose tissue for follicles at a minimum inflammatory reaction are characteristic of idiopathic atrophy of follicles (La Perle 2003, Capen 2007). But in the thyroids examined, thyrocyte necrosis was not connected either with follicle deformation or with substitution of adipose tissue for follicles and no inflammatory cellulisation was present either.

In this study current data on histometric parameters of the thyroid gland of slaughter cattle were acquired. Differences were found in thyroid weight, thyroid volume, size of follicles and thyrocytes (follicular epithelium) in relation to

the age, sex and live weight of slaughter cattle, and iodine content in the thyroid gland. In older cows large follicles with flat thyrocytes occurred more frequently. Some follicles contained necrotising thyrocytes. Compared to observations made by other authors in the same conditions 10 years ago differences were determined mainly in follicle sizes and height of the follicular epithelium.

ACKNOWLEDGEMENTS

This work was supported by the project of the Grant Agency of the University of South Bohemia (022/2010/Z) and grant of Ministry of Agriculture NAZV QH 81 105.

REFERENCES

- Bednář J, Röhling S, Vohnout S (1964): Contribution to the determination of protein iodine in blood serum. *Českoslov Farm* 13: 230–209 (in Czech).
- Capen CC (2007): Endocrine glands. In Maxie MG (eds.): *Kennedy and Palmer's pathology of domestic animals*. Saunders Elsevier, Orlando (Florida), pp. 325–428.
- Čada F (1998): Patomorphological monitoring of calves thyroid in early postnatal period in the area SVU Plzeň. *Vet Med-Czech* 33: 69–80 (in Czech).
- Černý H (2002): *Veterinary anatomy for study and practice*. NOVIKO a. s., Brno, pp. 528 (in Czech).
- Herzig I, Kursá J, Trávníček J, Kroupová V (2005): Milk, meat and eggs as food sources of iodine in the Czech Republic. In Dermitzakis M, Mariolakis I, Ermidou-Pollet S, Pollet S (eds.): *5th International symposium on trace elements in human: new perspectives*, Athens, Greece, October 13–15, pp. 92–93.
- Jelínek F, Krabačová I, Kroupová V (2003): Assessment of functional activity of the bovine thyroid gland using morphometry and two markers of cellular proliferation. *Acta Vet Brno* 72: 11–16.
- La Perle KMD, Blomme EAG, Capen CC, Jhiang SM (2003): Effect of exogenous human sodium iodine symporter expression on growth of MATLyLu cells. *Thyroid* 13: 133–140.
- Kaufmann S, Kursá J, Kroupová V, Rambeck WA (1998): Iodine in milk by supplementing feed. An additional strategy to erase iodine deficiency. *Vet Med-Czech* 6: 173–179.

- Krabačová I (2002): Morphological and functional changes of the thyroid gland at different iodine saturation of livestock. Dissertation, ZF JU v Českých Budějovicích, České Budějovice (in Czech).
- Kratochvíl P (1998): Morphological and functional changes of the thyroid gland in different breeding conditions. Dissertation, ZF JU v Českých Budějovicích, České Budějovice (in Czech).
- Kursa J, Herzig I, Trávníček J, Kroupová V (2004): The effect of higher iodine supply in the Czech Republic on the iodine content in milk. In Anke M (eds.): 22. Workshop Macro and Trace Elements, Mengen- und Spurelemente, second volume. Friedrich Schiller University Jena, Germany, July 4, pp. 1080–1086.
- Marvan F, Hampl A, Hložánková E, Kresan J, Massany L, Vernerová E (1992): Morphology of livestock. Brázda, Praha (in Czech).
- Vitti P, Rago T, Aghini-Lombardi F, Pinchera A (2001): Iodine deficiency disorders in Europe. *Public Health Nutr* 4: 529–535.
- Teng X, Shan Z, Teng W, Fan C, Wang H, Guo R (2009): Experimental study on the effects of chronic iodine excess on thyroid function, structure, and autoimmunity in autoimmune-prone NOD.H-2h4 mice. *Clin Exp Med* 9: 51–59.
- Trávníček J, Herzig I, Kursa J, Kroupová V, Navrátilová M (2006): Iodine content in raw milk. *Vet Med-Czech* 51: 448–453.
- Zamrazil V, Čerovská J, Bílek R, Dvořáková M, Hoskocová P, Šterzl I, Vavřejnová V (2007): Results of monitoring iodine supply in selected locations. In Ryšavá L (eds.): Iodine deficiency and its prevention in the Czech Republic, České Budějovice, March 3, pp. 14–20 (in Czech).

The impact of high iodine intake on thyroid function in ewes and lambs

Hana DUŠOVÁ¹, Jan TRÁVNÍČEK¹, Martin SVOBODA², Tomáš BAŇOCH²,
Vlasta KROUPOVÁ¹, Zdeněk PEKSA¹, Roman KONEČNÝ¹

¹ Department of Veterinary Disciplines and Quality of Products, Faculty of Agriculture, University of South Bohemia in České Budějovice, Czech Republic

² Clinic of Ruminant and Swine Diseases, Faculty of Veterinary Medicine, University of Veterinary and Pharmaceutical Sciences Brno, Czech Republic

Correspondence to: Prof. Jan Trávníček, CSc.
Department of Veterinary Disciplines and Quality of Products,
Faculty of Agriculture, University of South Bohemia in České Budějovice,
Czech Republic, Studentská 13, 370 05, České Budějovice, Czech Republic.
TEL: + 420 389 032 611; E-MAIL: travnic@zf.jcu.cz

Submitted: 2012-08-28 *Accepted:* 2012-09-15 *Published online:* 2012-10-02

Key words: calcium iodate; TSH; TT₃; TT₄; fT₃; fT₄

Neuroendocrinol Lett 2012; 33(5):517-524 PMID: 23090270 NEL330512A05 © 2012 Neuroendocrinology Letters • www.nel.edu

Abstract

OBJECTIVES: The objective of the study was to assess the metabolic risk of excessive dietary iodine intake in ewes and neonatal lambs.

DESIGN: Pregnant Šumava ewes received an experimental diet containing 3.1 mg iodine per kg of dietary dry matter in Group A (control, n=13, 6 ewes and 7 lambs) and 5.1 mg iodine per kg of dietary dry matter in Group B (experimental, n=12, 6 ewes, 6 lambs) for eight months. Iodine was administered to ewes as calcium iodate. TSH in blood serum; TT₃, TT₄, fT₃, and fT₄ in blood plasma were examined in both groups of ewes and lambs to assess the risks of iodine intake above the permitted limit, as it applies to thyroid gland activity.

RESULTS: Group B ewes showed a significant increase in TSH and TT₄ only on day 1 after parturition. The highest values of TT₄, TT₃, and fT₃ in lambs were recorded on day 1 after birth. The lowest values of fT₃ and fT₄ in lambs were measured on day 60 after birth with no differences observed between the groups. In lambs of Group B the lower concentration of TSH until day 3 after birth was followed by a significant increase from day 10 after birth.

CONCLUSION: Our results indicate a risk of postnatal hypothyroidism among lambs from pregnant and lactating ewes having a high iodine intake.

Abbreviations:

Cal	- calcium iodate
fT ₃	- free triiodothyronine
fT ₄	- free tetraiodothyroxine (thyroxine-prohormone)
ICCIDD	- International Council for the Control of Iodine Deficiency Disorders
TH	- thyroid hormones
TSH	- thyroid stimulating hormone
TT ₃	- total triiodothyronine
TT ₄	- total tetraiodothyroxine (thyroxine-prohormone)

To cite this article: Neuroendocrinol Lett 2012; 33(5):517-524

INTRODUCTION

Widespread supplementation of iodine in feed of farm animals in the Czech Republic (Kursa *et al.* 2000) has significantly contributed to elimination of goiter. With increasing iodine supplementation, goitrogenic risks from excessive iodine are currently increasing, as reported by the International Council for the Control of Iodine Deficiency Disorders (ICCIDD) in the newsletter of Iodine Deficiency Disorders (IDD Newsletter). High iodine intake from marine algae or through a high concentration of iodine in iodized table salt has increased risk of goiter in humans in some countries (Teng *et al.* 2006). Sang *et al.* (2012) reported an increased concentration of TSH and subclinical hypothyroidism and/or autoimmune thyroiditis. With acute iodine excess, its incorporation into organic compounds decreases while thyro-stimulating hormone increases. The primary function of thyroid hormones is enhancement of basal metabolism and glucose utilization in cells (Todini *et al.* 2006; 2007). According to Radetti *et al.* (2006) extreme doses of iodine in pregnancy do not markedly influence the level of thyroid hormones in ewes. Boland *et al.* (2008) investigated iodine supplementation in pregnant ewes and in lambs and concluded that high iodine intake in ewes decreased IgG concentration in lamb blood serum. Acute excess iodine decreases iodine transport, intrathyroidal organification, and release of thyroid hormones from the thyroid gland (Dayan & Panicker 2009).

The objective of the present study was to assess the risk of metabolic dysfunction with excessive dietary intake of iodine in ewes and newborn lambs.

MATERIALS AND METHODS

Experimental design

Twelve pregnant Šumava ewes in their 5th lactation weighing 53–60 kg and their neonatal lambs ($n = 13$) were used in this study. Environmental conditions such as feed, housing conditions, and temperature before and

during experimentation were similar. Prior to the start of the experiment, the ewes were randomly divided into two groups: Group A (control) comprised 6 ewes and their 7 lambs (3 female and 4 male) while Group B (experimental) consisted of 6 ewes and their 6 lambs (4 female and 2 male). Group A feed was supplemented with calcium iodate at 3 mg iodine per kg of dietary dry matter (DM). The diet of Group B was enriched with calcium iodate at 5 mg iodine per kg of dietary dry matter (DM). Lambs were fed only maternal milk. The formulation of the daily feed ration of ewes in the 2 month period before the experiment was identical in the groups. In the experimental period (from 1–2 months of gestation to 60 days after parturition) the feed ration differed only in iodine content of the mineral supplement. The content of iodine in the basal diet of ewes was 0.10 mg/kg. Water was supplied *ad libitum* to all sheep.

To assess iodine intake, its concentration in blood plasma was determined by the Sandell–Kolthoff colorimetric method.

Blood samples were taken from ewes 30 and 60 days prior to experimentation (Table 1), 30–50 days before parturition and on days 1, 10, 30, and 60 after parturition. Blood samples from lambs were collected on 1, 3, 10, 30, and 60 days of age. Blood samples were collected from ewes and lambs between 07.00 and 09.00 (1–2 h after morning feeding) from the *vena jugularis* into tubes containing heparin (for assessment of TT_3 , TT_4 , fT_3 and fT_4 from blood plasma) and without heparin (for assessment of TSH from blood serum) and centrifuged for 10 min. Blood serum and plasma were collected in sterile tubes and frozen at -20°C until analysis. The experiment was conducted in accordance with principles of the Anti Animal Cruelty Commission at the Agricultural Faculty of the University of South Bohemia in České Budějovice.

TSH analysis

TSH concentration in blood serum was determined immune-enzymatically using commercial kits from ELISA Development. Immuno-enzymatic determination of TSH is a sandwich-type technique in two steps and based on the interaction of a specific polyclonal antibody with the ovine hormone TSH.

TT_3 , TT_4 , free T_3 and free T_4 analysis

Concentrations of free and total thyroid hormone in blood plasma were determined by radio-immuno-analysis using commercial kits from IMMUNOTECH (Praha).

Statistical analysis

Data were analyzed using Statistica 6.0 Cz software. The non-parametric Tukey test was used for TSH, TT_3 , TT_4 , fT_3 , and fT_4 concentrations. Values of $p < 0.05$ were considered significant. The results are expressed in mean values \pm standard deviations.

Tab 1. The formulation of daily feed ration in the experimental period of control and experimental groups of ewes.

Dietary component	Number
meadow hay	1 500 g
oat groats	270 g
lucerne granules	240 g
mineral supplement ^b	9 g

^bsupplied per kg diet: 3 mg of I in Group A, 5 mg of I in Group B, 20.0 mg of Co, 6 000 mg of Zn, 30.0 mg of Se, 1 000 mg of Cu, 5 100 mg of Mn, 900 000 I.U. of vit. A, 110 000 I.U. of vit. D3, 1 500 mg of vit. E

RESULTS

EWES

TSH serum concentrations in ewes (Table 3)

- **30–50 days before parturition (Table 3)**
There were no differences in the concentrations of TSH between Groups A and B.
- **1 day post-parturition (Table 3)**
Group B TSH concentration was significantly higher than Group A ($p < 0.05$).
- **10, 30, and 60 days after post-parturition (Table 3)**
There were no differences in the concentrations of TSH between Groups A and B.

TT₃, TT₄, free T₃ and free T₄ plasma concentrations in ewes (Table 3)

- **30–50 days before parturition (Table 3)**
There were no differences in the concentrations of TT₃, TT₄, fT₃, and fT₄ between Groups A and B.

TT₃ plasma concentrations

- **1–60 days after parturition (Table 3)**
There were no differences in the concentrations of TT₃ between Groups A and B.

TT₄ plasma concentrations

- **1 day after parturition (Table 3)**
Concentration of TT₄ was significantly higher in Group B than in Group A ($p < 0.01$).
- **10, 30, and 60 days after parturition (Table 3)**
There were no differences in the concentration of TT₄ between Groups A and B. On day 30 after parturition a pronounced increase was observed in TT₄ concentration in both groups of ewes, while, on day 60, the concentration of TT₄ in both groups of ewes decreased ($p < 0.05$) to the values recorded 30 days before parturition.

Tab 2. Hormones in ewes before experiment without iodine supplementation. Data expressed as mean ± SE (Group A, n=12, Group B, n=12).

Variable	Before experiment*	
	A	B
TSH (ng/ml) blood serum	0.55±0.13	0.91±0.46
TT ₃ (nmol/l) blood plasma	2.4±0.3	2.4±0.2
TT ₄ (nmol/l) blood plasma	75.6±14.6	69.2±9.2
fT ₃ (pmol/l) blood plasma	4.7±0.7	4.2±0.6
fT ₄ (pmol/l) blood plasma	13.6±3.3	12.5±3.1

* mean from 2 consumptions

Free T₃ plasma concentrations

- **30 days after parturition (Table 3)**
Concentration of fT₃ in Group A was significantly higher than in Group B ($p < 0.05$).
- **1, 10, and 60 days after parturition (Table 3)**
There were no differences in the concentration of fT₃ between Groups A and B.

Free T₄ plasma concentrations

- **1–60 days after parturition (Table 3)**
There were no differences in the concentrations of fT₄ between Groups A and B.

LAMBS

TSH serum concentrations in lambs (Figure 1)

- **1 and 3 days postnatal**
Concentration of TSH in Group B was significantly lower than in Group A ($p < 0.05$).
- **10, 30, and 60 days postnatal**
Concentration of TSH was significantly higher in Group B than in Group A ($p < 0.01$).

Tab 3. Hormones in ewes during iodine supplementation before and after parturition.

Variable	Before parturition		Days after parturition							
	A	B	1		10		30		60	
Group	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B
TSH ¹	0.59±0.13	0.88±0.27	0.54±0.12 ^a	0.75±0.13 ^a	0.58±0.03	0.99±0.39	0.64±0.22	0.64±0.09	0.68±0.19	0.77±0.25
TT ₃ ²	2.2±0.3	2.3±0.4	2.0±0.1 ^c	2.8±1.2	2.5±0.3 ^d	2.4±0.7	2.3±0.3	2.3±0.2	2.2±0.1	2.0±0.4
TT ₄ ²	56.6±11.8	62.1±12.1	47.8±6.8 ^a	78.2±11.7 ^f	61.7±7.4 ^g	64.7±13.7	94.7±20.4 ^j	91.0±17.5 ^l	54.1±7.6 ^k	62.0±9.6 ^m
fT ₃ ³	3.8±0.4	3.5±0.4	4.4±0.3	4.2±1.1	4.0±0.5	3.6±0.3	4.2±0.3 ⁿ	3.6±0.3 ^o	3.0±0.1 ^p	2.7±0.3 ^q
fT ₄ ³	13.4±3.5	12.2±2.9	12.0±1.8	13.1±1.6 ^h	10.9±2.8	9.9±0.7 ⁱ	13.8±1.8	13.6±1.3 ^r	12.3±1.5	11.9±0.4 ^s

Data expressed as mean ± SE (Group A, n=6, Group B, n=6).

eg; lmc; nxy; rxy; tu; p<0.05; cd; ef; hci; npi; ap; jk; oq; p<0.01

¹(ng/ml), ²(nmol/l), ³(pmol/l)

¹ blood serum; ^{2,3} blood plasma

A - control Group supplementation 3 mg l/kg DM of diet

B - experimental Group supplementation 5 mg l/kg DM of diet

TT₃ plasma concentrations in lambs (Figure 2)

• **1, 30, and 60 days postnatal**

There were no differences in the concentration of TT₃ between lambs of Groups A and B. Within 60 days after parturition there was a significant decrease in TT₃ in both groups ($p < 0.05$).

• **3 and 10 days postnatal**

Concentration of TT₃ in Group B was significantly higher than in Group A ($p < 0.05$).

TT₄ plasma concentrations (Figure 3)

• **3 days postnatal**

Concentration of TT₄ in Group B was significantly higher than in Group A ($p < 0.01$).

• **1, 10, 30, and 60 days postnatal**

There were no differences in the concentrations of TT₄ between lambs in Groups A and B. A gradual decrease in TT₄ from day 1 was significant in Group A on day 3 ($p < 0.01$) and day 6 ($p < 0.05$) after birth.

Free T₃ plasma concentrations (Figure 4)

• **1 day after birth**

The concentration of fT₃ in Group B was significantly lower than in Group A ($p < 0.05$).

• **3, 10, 30, and 60 days postnatal**

There were no differences in the concentrations of fT₃ between Groups A and B. A gradual decrease in fT₃ from day 1 was significant only in Group A on day 30 ($p < 0.05$) and day 60 ($p < 0.01$) after birth.

Free T₄ plasma concentrations (Figure 5)

• **1 day after birth**

The concentration of fT₄ in Group B was significantly lower than in Group A ($p < 0.01$).

• **3, 10, 30, and 60 days postnatal**

There were no differences in the concentration of fT₄ among Groups A and B. A gradual decrease in fT₄ from day 1 was significant only in Group A on day 10 ($p < 0.05$) after birth.

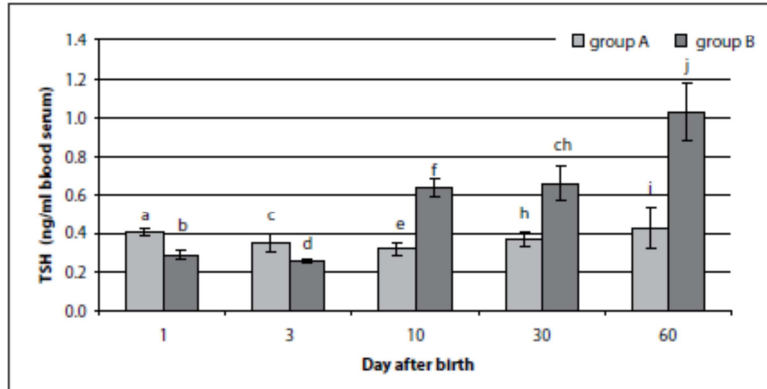


Fig. 1. TSH concentrations in lambs after birth. Data expressed as mean ± SE (Group A, n=7, Group B, n=6). a,b; e,f; h,ch $p < 0.01$; j,a,b,c,d,e,h,i $p < 0.001$; j,f; c,h; c,d; ch,a,b,d; f,b,d $p < 0.05$.

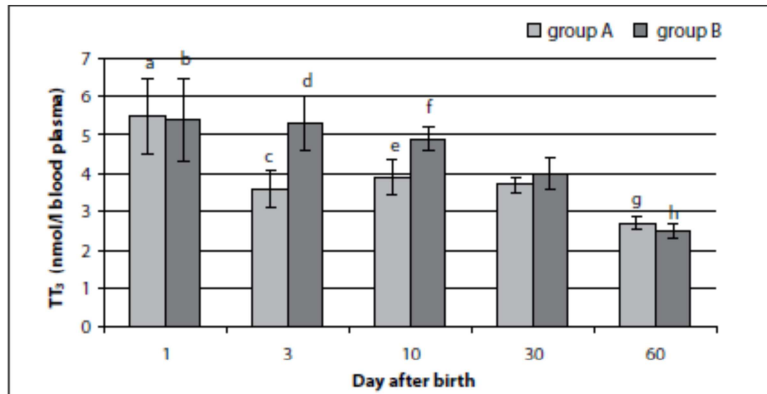


Fig. 2. TT₃ concentrations in lambs after birth (Data expressed as mean ± SE (Group A, n=7, Group B, n=6). a,g; b,h; c,d; e,f $p < 0.05$).

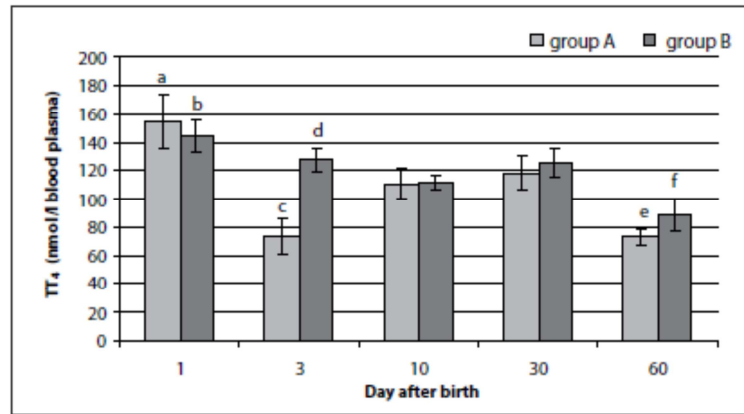


Fig. 3. TT₄ concentrations in lambs after birth (Data expressed as mean ± SE (Group A, n=7, Group B, n=6). ^{a,c,d} p<0.01; ^b p<0.05

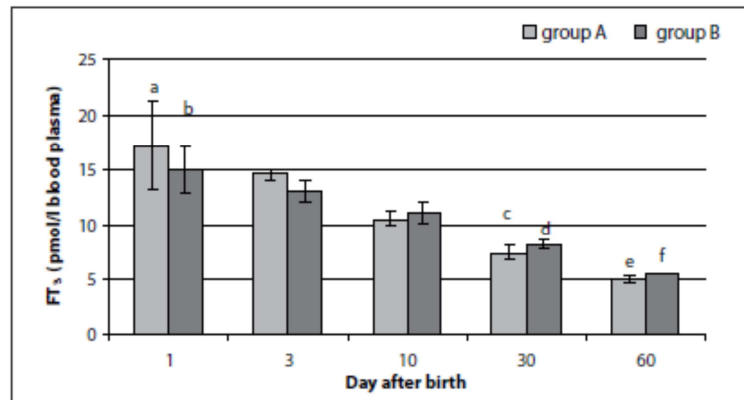


Fig. 4. FT₃ concentrations in lambs after birth (Data expressed as mean ± SE (Group A, n=7, Group B, n=6). ^{a,d,f} p<0.01; ^{a,b,c,d} p<0.05

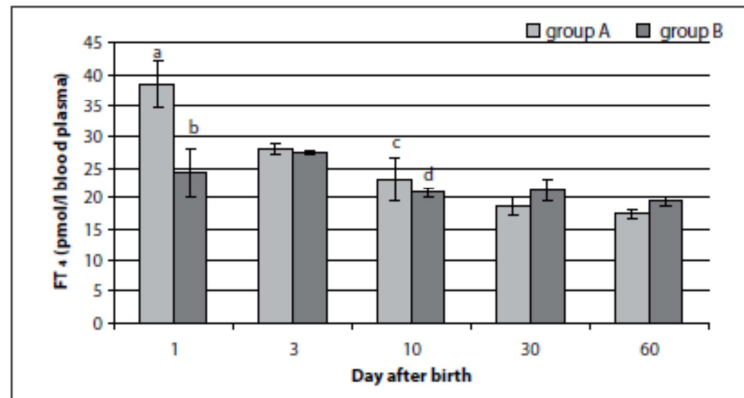


Fig. 5. FT₄ concentrations in lambs after birth (Data expressed as mean ± SE (Group A, n=7, Group B, n=6). ^{a,b} p<0.01; ^{a,c} p<0.05; ^{a,d} p<0.001

DISCUSSION

Iodine intake in the control Group A was 3.1 mg/kg DM while in the experimental Group B it exceeded the maximum limit set by EU standards (2005) of 5 mg/kg of 88% dietary DM. Only the free hormone is responsible for the biological activity of thyroid hormones and available to tissue (Todini 2007). Concentrations of thyroid hormones are influenced by such factors as age, breed, nutrition, season, physiological conditions, method of measurement, and use of a fat- or starch-enriched diet (Todini *et al.* 2005, 2006; Eshratkhan *et al.* 2010). The other factors such as selenium status can also play an important role in thyroid hormone metabolism (Sewerynek *et al.* 2006).

Assessment of the results of our study is complex, due to a wide variation in the levels of thyroid hormones, confirming reports by Todini *et al.* (2007). The level of serum TSH in the ewes before the trial (Table 2) and before parturition (Table 3) was similar in both groups. The TSH concentration in Group B receiving 5.1 mg/kg DM was significantly higher on day 1 after parturition than in Group A, indicating a potential risk. TSH concentration (Table 3) reached the highest average value on day 10 (0.99 ± 0.39 ng/ml) after parturition in Group B, representing a goitrogenic risk (Burikhano & Matsuzaki 2000). Our results differed from those of Guyot *et al.* (2011), who found markedly higher TSH concentration in cows (2.5 ng/ml in a group without supplemental iodine), decreasing to 1.5 ng/ml following 120-day iodine supplementation. Our results are consistent with the findings of Badiei *et al.* (2009), who recorded similar TSH concentration in Iranian sheep. Badiei *et al.* (2010) reported lower TSH concentration in 1 year old sheep without supplementation, at 0.07 ng/ml.

The level of plasma TH hormones (Table 2) in our ewes decreased as gestation progressed. Yildiz *et al.* (2005) also reported that T_4 concentration was highest during early pregnancy and gradually decreased, with the lowest values measured at the end of gestation and post-parturition. The experiments in sows indicate same tendency of decrease of T_4 concentrations measured 14 days before parturition, 10 days after parturition and at the weaning (Baňoch *et al.* 2011). Aumont *et al.* (1989) reported decreasing T_4 concentration during pregnancy. Manalu *et al.* (1997) suggested that the decrease in the level of thyroid hormones during pregnancy can be explained by the consumption of iodine by the thyroid gland of the fetus.

The concentrations of TT_3 in ewes during the experiment correspond to the values reported in sheep by Trávníček *et al.* (2001), Nazifi *et al.* (2008), and by Qin *et al.* (2011) in goats. In contradiction, higher values were determined in sheep by Badiei *et al.* (2010), Bekeová *et al.* (1995), and Eshratkhan (2012) and in cows by Guyot *et al.* (2011). In the present study, the TT_3 concentra-

tion in Group B was lower but not significant following parturition (except day 1) (Table 3).

With the exception of day 30 *post-partum*, TT_4 concentrations (Table 3) were lower in both groups of ewes than those reported by Nazifi *et al.* (2008) in adult non-supplemented sheep, 91.60 ± 2.95 nmol/l. On day 30 *post-partum* (Table 3) our value of TT_4 exceeded those reported by Badiei *et al.* (2008) and Bekeová *et al.* (1995) in sheep without iodine supplementation and in those receiving simultaneous supplementation of iodine and selenium (Trávníček *et al.* 2001). The polyfactorial influence of TT_4 and the relatively limited usefulness of this variable are demonstrated by results of Badiei *et al.* (2010) and Eshratkhan *et al.* (2012), who reported higher TT_4 concentration in non-pregnant adult sheep without iodine supplementation compared to our results. The permanently higher level of fT_3 in Moghani sheep in Iran (Nazifi *et al.* 2008, Badiei *et al.* 2009, 2010, Eshratkhan *et al.* 2010) in comparison with the values of the Šumava ewes used in our experiment in the Czech Republic suggests a potential influence of temperature of the area (Gordon *et al.* 2000) in which the trial was conducted that makes comparison of experimental results difficult. For a comparison of results of assessments of thyroid gland activity it is necessary to standardize rearing conditions under which the studies were conducted.

The level of plasma fT_4 in our ewes was lower during the trial than that reported by Nazifi *et al.* (2008), Badiei *et al.* (2009, 2010) in non-pregnant sheep and Eshratkhan *et al.* (2010) in Moghani sheep.

From the aspect of metabolic demands, a pronounced influence of the onset of lactation after parturition can be assumed. The concentration of T_3 and T_4 was lowest in ewes on day 1 *post-partum* in Group A and subsequently gradually increased, which corresponds to metabolic demands of lactation and the observations of Bekeová *et al.* (1991), Huszenica *et al.* (2001), and Antunović *et al.* (2010). In our trial, TT_4 increased consistently until day 30 *post-partum* in Group B, while fT_3 showed a decrease after day 10 *post-partum*. The lowest values in fT_3 concentration for both Groups A and B were recorded in the period 30–50 days before parturition (Table 3). On day 3 the levels of fT_3 was slightly increased from day 1 *post-partum*, while from day 10 there was a decreasing trend to a minimum of 3.0 pmol/l in Group A and 2.7 pmol/l in Group B. The lowest values of fT_4 were measured on day 10 *post-parturition*. According to Benjaminsen (1981) and Riis & Madsen (1985) the concentration of thyroid hormones decreases during lactation.

The trend of decrease in TT_3 and TT_4 until 60 days of age in lambs, which was significant in Group A (Figures 2 and 3), corresponds to ontogenetic changes in metabolism regardless of the level of iodine intake from milk (Todini *et al.* 2005, 2006; Todini 2007). The fT_3 concentration (Figure 4) recorded in lambs of both groups was higher than reported by Eshratkhan *et al.*

(2010) in Iranian Moghani lambs. A gradual decrease in fT_3 and fT_4 (Figures 4, 5) in both groups of lambs from day 1 to day 60 after birth was significant in Group A. The decrease in fT_3 in lambs (Figure 4) was more pronounced from 10 days of age than the decrease in fT_4 (Figure 5), suggesting a high level of metabolism in growing lambs irrespective of the influence of higher iodine intake from mother's milk in Group B.

The significantly higher TSH concentration (Figure 1) from day 3 after birth in lambs of ewes with iodine intake of 3.1 mg/kg DM paradoxically corresponds to findings of insufficient iodine intake (Zamrazil *et al.* 1996), although, according to EU standards (2005), the load of iodine in lambs before and after birth was high, particularly in Group B. In general, these findings correspond to values reported by Guyot *et al.* (2011) in calves whose mothers received high dietary doses of iodine.

Significantly higher values of TSH (Figure 1) from day 10 to day 60 in Group B lambs having mothers receiving iodine at 5.1 mg/kg is associated with, according to Teng *et al.* (2006), to findings connected with hypothyroidism. The above-mentioned significant differences demonstrate potential risks of the prenatal and postnatal iodine load in lambs with mothers having high iodine intake during pregnancy and lactation. Rose *et al.* (2007), Boland *et al.* (2008) and Guyot *et al.* (2011) also emphasized the not yet fully explained problem of an undesirable effect of high iodine in pregnancy.

According to Utiger (2006), excessive iodine intake is accompanied by a decrease in TSH, while its increase is indicative of iodine deficiency. Our results document the goitrogenic risks of high iodine intake (5.1 mg/kg dietary dry matter) in ewes and in their lambs.

ACKNOWLEDGEMENTS

This study was supported by the Grant NAZV QH 81 105 of Ministry of Agriculture and by the Project 022/2010/Z of the Grant Agency of the University of South Bohemia. We thank Dr. Alan Pike (The Lucidus Consultancy) for proofreading the manuscript.

REFERENCES

- Antunović Z, Novoselec J, Sauerwein H, Vegara M, Veranda M (2010). Blood metabolite hormones and leptin in growing lambs. *Poljoprivreda* **16**: 29–34.
- Aumont G, Levieux D, Lamand M, Tressol JC (1989). Iodine nutrition in ewes: II. Effect of low to high iodine intake by ewes on iodine content of biological fluids and plasma immunoglobulins G in newborn lambs. *Reprod Nutr Develop*. **29**: 203–217.
- Badiei K, Nikghadam P, Mostaghni K (2009). Effect of cadmium on thyroid function in sheep. *Comp Clin Pathol*. **17**: 259–262.
- Badiei K, Mostaghni K, Gorjizadeh E (2008). Effect of manganese on thyroid function in sheep. *Comp Clin Pathol*. **18**: 255–259.
- Badiei K, Mostaghni K, Nikghadam P, Pourjafar M (2010). The effect of mercury on thyroid function in sheep. *Int J Vet Res*. **4**: 277–281.
- Baňoch T, Fajt Z, Kuta J, Kotrbáček V, Konečný R, Trávníček J, Svoboda M (2011). Utilisation of iodine from different sources by sows and their progeny. *Neuroendocrinol Lett*. **32**: 510–517.
- Bekeová E, Elecko J, Krajnicakova M, Hendrichovsky V, Maracek I (1991). Dynamics of changes in concentrations of cholesterol and thyroid and ovarian hormones in blood-serum during postparturient period of ewes. *Vet Med-Czech* **36**: 673–684.
- Bekeová E, Krajnicakova M, Hendrichovsky V, Maracek I (1995). Thyroid and ovarian hormones in ewes treated with gestagens and PMSG in the spring season. *Vet Med-Czech* **40**: 345–352.
- Benjaminsen E (1981). Plasma prolactin in the sow with emphasis on variation in resumption of ovarian activity after weaning. *Acta Vet Scand*. **22**: 67.
- Boland TM, Hayes L, Sweeney T, Callan JJ, Baird AW, Keely S, Crosby TF (2008). The effects of cobalt and iodine supplementation of the pregnant ewe diet on immunoglobulin G, vitamin E, T3 and T4 levels in the progeny. *Animal* **2**: 197–206.
- Braverman LE (2009). Environmental perchlorate: perhaps much ado about nothing. *Endocr Pract*. **15**: 50–52.
- Burikhanov RB, Matsuzaki S (2000). Excess iodine induces apoptosis in the thyroid of goitrogen-pretreated rats in vivo. *Thyroid* **10**: 123–129.
- Dayan CM, Panicker V (2009). Interpretation of thyroid function tests and their relationship to iodine nutrition: Changes in TSH, free T4, and free T3 resulting from iodine deficiency and iodine excess. In: Preedy VR, Burrow GN, Watson RR: *Comprehensive Handbook of Iodine: Nutritional, Biochemical, Pathological and Therapeutic Aspects*. Academic Press, N. Y., 887–896.
- EU standard (2005). Commission Regulation /EC/ No. 1459/2005 of 8 September amending the conditions for authorization of a number of feed additives belonging to the group of trace elements, *OEJU* **233**: 8–10.
- Eshratkha B (2012). Comparative study on determination of plasma thyroid hormones using the three immunoassay methods in sheep. *J Comp Clin Path Res*. **1**: 9–16.
- Eshratkha B, Sadaghian M, Eshratkha S, Pourrabbi S, Najafian K (2010). Relationship between the blood thyroid hormones and lipid profile in Moghani sheep; influence of age and sex. *Com Clin Pathol*. **19**: 15–20.
- Gordon CJ, Becker P, Padnos B (2000). Comparison of heat and cold stress to assess thermoregulatory dysfunction in hypothyroid rats. *AJP - Regu Physiol*. **279**: 2066–2071.
- Guyot H, de Oliveira LA, Ramery E, Beckers JF, Rollin F (2011). Effect of a combined iodine and selenium supplementation on I and Se status of cows and their calves. *J Trace Elem Med Biol*. **25**: 118–124.
- Huszenica GY, Kulcsar M, Nikoli JA, Schmidt J, Korodi P, Katai L (2001). Plasma leptin concentration and its interrelation with some blood metabolites, metabolic hormones and the resumption of cyclic ovarian function in postpartum dairy cows supplemented with monensin or inert fat in feed. *Br Soc Anim Sci*. **2**: 405–409.
- Kursa J, Trávníček J, Rambeck WA, Kroupová V, Vitovec J (2000). Goitrogenic effects of extracted rapeseed meal and nitrates in sheep and their progeny. *Vet Med - Czech* **45**: 129–140.
- Manalu W, Sumaryadi MY, Kusumorini N (1997). Maternal serum concentrations of total triiodothyronine, tetraiodothyronine and cortisol indifferent status of pregnancy during late pregnancy in Ettawah-cross does. *Asian-Aust J Anim Sci*. **10**: 385–390.
- Nazifi S, Saeb M, Abangah E, Karimi T (2008). Studies on the relationship between thyroid hormones and some trace elements in the blood serum of Iranian fat-tailed sheep. *Vet Arch*. **78**: 159–165.
- Qin F, Zhu X, Zhang W, Zhou J, Zhang S, Jia Z (2011). Effects of dietary iodine and selenium on nutrient digestibility, serum thyroid hormones, and antioxidant status of Liaoning cashmere goats. *Biol Trace Elem Res*. **143**: 31480–31488.
- Radetti G, Gottardi E, Bona G, Corrias A, Salardi S, Locher S (2006). Study group for thyroid diseases of the Italian society for pediatric endocrinology and diabetes. The natural history of euthyroid Hashimoto's thyroiditis in children. *J Pediatr*. **149**: 827–832.

- 25 Riis PM, Madsen A (1985). Thyroxine concentration and secretion rates in relation to pregnancy, lactation and energy balance in goats. *J Endocrinol.* **107**: 421–427.
- 26 Rose MT, Wolf BT, Haresign W (2007). Effect of the level of iodine in the diet of pregnant ewes on the concentration of immunoglobulin G in the plasma of neonatal lambs following the consumption of colostrum. *Br J Nutr.* **97**: 315–320.
- 27 Sang Z, Wang PP, Yao Z, Shen J, Halfyard B, Tan L *et al.* (2012). Exploration of the safe upper level of iodine intake in euthyroid Chinese adults: a randomized double – blind trial^{1,2,3}. *J Am Clin Nutr.* **95**: 367–373.
- 28 Sewerynek E, Dabrowska K, Stuss M, Wiktorska JA, Gromadzinska J, Wasowicz W (2006). Potassium iodide changes the levels of thyroid hormones in goitrogenic rats on selenium deficient diet. *Neuroendocrinol Lett.* **27**: 631–638.
- 29 Teng W, Shan Z, Teng X, Guan H, Li Y, Teng D *et al.* (2006). Effect of iodine intake on thyroid diseases in China. *N Engl J Med.* **354**: 2783–2793.
- 30 Todini L (2007). Thyroid hormones in small ruminants: effects of endogenous, environmental and nutritional factors. *Animal* **1**: 997–1008.
- 31 Todini L, Delgadillo JA, Debenedetti A, Chemineau P (2006). Plasma total T3 and T4 concentrations in bucks as affected by photoperiod. *Small Rum Res.* **65**: 8–13.
- 32 Todini L, Malfatti A, Barbato O, Trabalza-Marinucci M, Acuti G, Antonini Debenedetti A (2005). Plasma thyroid hormones, fibre characteristics and hair follicle activity in angora kids: effects of supplementation with horse bean (*Vicia faba minor*). *Atti SIS Vet.* **59**: 39–40.
- 33 Todini L, Malfatti A, Valbonesi A, Trabalza-Marinucci M and Debenedetti A (2007). Plasma total T3 and T4 concentrations in goats at different physiological stages, as affected by the energy intake. *Small Rum Res.* **68**: 285–290.
- 34 Trávníček J, Kroupová V, Kursá J, Illek J, Thér R (2001). Effects of rapeseed meal and nitrates on thyroid functions in sheep. *Czech J Anim Sci.* **46**: 1–10.
- 35 Utiger R (2006). Iodine Nutrition - More Is Better. *New England J Med.* **354**: 2819–2821.
- 36 Yildiz A, Balıkcı E, Gurdogan F (2005). Changes in some serum hormonal profiles during pregnancy in single- and twin-foetus-bearing Akkaraman sheep. *Med Wet - Pl.* **61**: 1138–1141.
- 37 Zamrazil V, Čeřovská J, Dvořáková M, *et al.* (1996). Iodine deficiency in Czech Republic. In: Neve J, *et al.* (eds.). *Therapeutic uses of Trace Elements*. Plenum Press, New York, London, 329–332.

11 Použitá literatura

Alwan, A. F. (2009): Sheep Fetal Thyroid Histological Development, with Adult Plasma T₄ and T₃ Hormones Concentrations. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 8(11): 2115-2117.

Awadeh, F. T., Kincaid, K. R. L., Johnson, K. A. (1998): Effect of level and source of dietary selenium on concentration of thyroid hormones and immunoglobulins in BEF calves and cows. *Journal of Animal Science*, 76, 1204-1215.

Bacha, W. J., Bacha, L. M. (2000): *Color Atlas of Veterinary Histology*. 2. vydání. Lippincott Williams & Wilkins, Baltimore, 318 pp.

Banghová, K., Al Taji, E., Lebl, J. (2006): Pendrin a jeho úloha v patogenezi kongenitální hypotyreózy a dalších onemocnění. *DMEV*, 9(2): 80-84.

Bedi, S. P. S., Pattanaik, A. K., Khan, S. A., Kumar, A. (2000): Effect of graded levels of iodine supplementation on the performance of Barbari goats. *Indian Journal of Animal Sciences*, 70(7): 736-739.

Bednář, J., Röhling, S., Vohnout, S. (1964): Příspěvek ke stanovení proteinového jódu v krevním séru. *Československá farmacie*, 13, 230-239.

Bhardwaji, R. L., Rajput, R., Pathaki, V., Thakur, K. (2006): Comparative anatomy of the thyroid gland of small ruminants. *Indian Journal of Animal Sciences*, 76(1): 46-47.

Bianco, A. C., Salvatore, D., Gereben, B., Berry, M. J., Larsen, P. R. (2002): Biochemistry, cellular and molecular biology, and physiological roles of the iodothyronine selenodeiodinases. *Endocrine Reviews*, 23(1): 38-89.

Biddinger, P. W. (2012): Normal Anatomy and Histology, Embryology and Developmental Lesions. In: Nikiforov, Y. E., Biddinger, P. W., Thompson, L. D. R. (Ed): *Diagnostic Pathology and Molecular Genetics of the Thyroid*, 2. vydání. Wolters Kluwer/Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia, 1-33 pp.

Bíreš, J., Bartko, P., Weissová, T., Michna, A., Matišák, T. (1996): Goat iodopenia as a cause of congenital struma in kids. *Veterinarni Medicina*, 41, 133-138.

Blahoš, J., Zamrazil, V., Cibula, D., Dostál, C., Hainer, V., Homolka, J., Höschl, C., Jabor, A., Kočvara, R., Lazúrová, I., Lebl, J., Machala, L., Stárka, L., Šterzl, I., Štolfa, J., Vlček, P., Vondra, K., Vondrová, H., J., W., Zadák, Z., Zavoral, M., Zima, T., Živný, J. (2006): *Endokrinologie - Interdisciplinární obor*. Triton, Praha, 505 pp.

- Bogazzi, F., Raggi, F., Ultimieri, F., Campomori, A., Cosci, C., Berrtini, S., Neri, E., La Rocca, R., Ronca, G., Martino, E., Bartalena, L. (2000): A novel mutation in pendrin gene associated with Pendred's syndrome. *Clinical Endocrinology*, 52(3): 279-285.
- Burgi, H. (2010): Iodine excess. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism*, 24(1): 107-115.
- Capen, C. C. (2001): Endocrine system. In: McGavin, M. D., Carlton, W. W., Zachary, J. F. (Ed): *Thomson's Special Veterinary Pathology*, 3. vydání. Mosby, St. Louis, 755 pp.
- Capen, C. C. (2006): Thyroid gland. In: Maxie, M. G. (Ed): *Jubb, Kennedy and Palmer's Pathology of Domestic Animals*. Fifth edition. Elsevier, Philadelphia, 279-406 pp.
- Capuco, A. V., Wood, D. L., Elsasser, T. H., Kahl, S., Erdman, R. A., Van Tassell, C. P., Lefcourt, A., Piperova, L. S. (2001): Effect of somatotropin on thyroid hormones and cytokines in lacting dairy cows during ad libitum and restricted feed intake. *Journal of Dairy Science*, 84, 2430-2439.
- Coelho, L. A., Sasa, A., Bicudo, S. D., Balieiro, J. C. C. (2008): Plasma concentrations of testosterone, T3 and T4 in bucks submitted to heat stress. *Arquivo Brasileiro De Medicina Veterinaria E Zootecnia*, 60, 1338-1345.
- Čada, F. (1998): Patomorfologické sledování štítné žlázy telat v raném postnatálním období v. nasávací oblasti SVÚ Plzeň. *Veterinarni Medicina*, 33(2): 69-80.
- Čeřovská, J., Bílek, R., Zamrazilová, H., Hoskovcová, P., Vosátková, M. (2006): Změny v zásobení jodem české populace po jeradikaci jodového deficitu a jejich příčiny. *Vnitřní lékařství*, 52(10): 858-863.
- Dal Maso, L., Bosetti, C., La Vecchia, C., Franceschi, S. (2009): Risk factors for thyroid cancer: an epidemiological review focused on nutritional factors. *Cancer Causes and Control*, 20, 75-86.
- De Deken, X., Wang, D., Dumont, J. E., Miot, F. (2002): Characterization of ThOX proteins as components of the thyroid H₂O₂-generating system. *Experimental Cell Research*, 273(2): 187-196.
- Deborah, S. G., Stabenfeldt, G. H. (2007): Endocrine system. In: Cunningham, J. G., Klein, B. G. (Ed): *Textbook of Veterinary Physiology*. Elsevier Incorporated, St. Louis, 410-463 pp.

Derycke, G., Mabon, N., Mandiki, S. N. M., Bister, J. L., Wathelet, J. P., Marlier, M., Paquay, R. (1999): Chemical changes and influences of rapeseed antinutritional factors on lamb physiology and performance: 1. Animal performance and thyroid histology. *Animal Feed Science and Technology*, 81(1-2): 81-91.

Dotč, C., Fehm, H. L. (2003): Endokrinní poruchy. In: Fölsch, U. R., Kochsiek, K., Schmidt, R. F. (Ed): *Patologická fyziologie*. Grada Publishing, Praha, 393-423 pp.

Dušová, H., Trávníček, J., Kroupová, V., Stanková, M., Peksa, Z. (2012a): Effect of high Iodine Intake on selected Parameters of Immunity in Sheep. *Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy*, 56(4): 659-662.

Dušová, H., Trávníček, J., Svoboda, M., Baňoch, T., Kroupová, V., Peksa, Z., Konečný, R. (2012b): The impact of high iodine intake on thyroid function in ewes and lambs. *Neuroendocrinology Letters*, 33(5): 517-24.

Dyce, K. M., Sack, W. O., Wensing, C. J. G. (1991): *Anatomie der Haustiere: Lehrbuch für Studium und Praxis*, 1. vyd. Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart, 883 pp.

Flachowsky, G. (2007): Iodine in animal nutrition and Iodine transfer from feed into food of animal origin. *Lohmann Information*, 42(2): 47-59.

Flachowsky, G., Shöne, F., Jahreis, G. (2006): Zur Jodanreicherung in Lebensmitteln tierischer Herkunft Ernährung Umshau, 53, 17-21.

Flachowsky, G., Schone, F., Leiterer, M., Bemann, D., Spolders, M., Lebzien, P. (2007): Influence of an iodine depletion period and teat dipping on the iodine concentration in serum and milk of cows. *Journal of Animal and Feed Sciences*, 16(1): 18-25.

Fowden, A. L., Mapstone, J., Forhead, A. J. (2001): Regulation of glucogenesis by thyroid hormones in fetal sheep during late gestation. *Journal of Endocrinology*, 170(2): 461-69.

Frandsen, R. D., Wilke, W. L., Fails, A. D. (2009): *Anatomy and Physiology of Farms Animals*, 7. vyd. Wiley - Blackwell, Iowa, 511 pp.

Franke, K., Schöne, F., Leiterer, M., Berk, A. (2006): Einfluss einer gestaffelten Jodversorgung auf den Jodgehalt von Organen und Geweben bei Schweinen. *Proc. 9. Tagung Schwein- und Geflügelernahrung*, 28.-30.11. 2006, Halle, 173-175.

Franke, K., Meyer, U., Wagner, H., Flachowsky, G. (2009): Influence of various iodine supplementation levels and two different iodine species on the iodine content of the milk of cows fed rapeseed meal or distillers dried grains with solubles as the protein source. *Journal of Dairy Science*, 92(9): 4514-4523.

Ganong, F. W. (2005): *Přehled lékařské fyziologie*. Galén, Praha, 890 pp.

Grace, N. D., Waghorn, G. C. (2005): Impact of iodine supplementation of dairy cows on milk production and iodine concentrations in milk. *New Zealand Veterinary Journal*, 53(1): 10-13.

Greenspan, F. S. (2003): Štítná žláza. In: Greenspan, F. S., Baxter, J. D. (Ed): *Základní a klinická endokrinologie*. H&H, Praha, 174-245 pp.

Guan, H., Li, C., Li, Y., Fan, C., Teng, Y., Shan, Z., Teng, W. (2005): High iodine intake is a risk factor of post-partum thyroiditis: Result of a survey from Shenyang, China. *Journal of Endocrinological Investigation*, 28(10): 876-881.

Guan, H., Ji, M., Bao, R., Yu, H., Wang, W., Hou, P., Zhang, Y., Shan, Z., Teng, W., Xing, M. (2009): Association of High Iodine Intake with the T1799A *BRAF* Mutation in Papillary Thyroid Cancer. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 94(5): 1612-1617.

Guyot, H., De Oliveira, L. A., Ramery, E., Beckers, J. C., Rollin, F. (2011): Effect of a combined iodine and selenium supplementation on I and Se status of cows and their calves. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 25, 118-124.

Halouzka, R., Krinke, J. (2000): *Systémová veterinární patologie 3.díl. Močový, pohlavní, endokrinní a nervový systém*. VFU Brno, Brno, 119 pp.

Hejtmankova, A., Kuklík, L., Trnková, E., Dragounová, H. (2006): Iodine concentrations in cow's milk in Central and Northern Bohemia. *Czech Journal of Animal Science*, 51(5): 189-195.

Herzig, I., Trávníček, J., Kursa, J., Kroupová, V. (2005): The content of iodine in pork. *Veterinarni Medicina*, 50(12): 521-525.

Horký, D., Tichý, F. (2004): *Histologie – Mikroskopická anatomie*. VFU Brno, Brno, 275 pp.

Huszenicza, G., Kulcsar, A., Rudas, P. (2002): Clinical endocrinology of thyroid gland function in ruminants. *Veterinarni Medicina*, 47(7): 199-210.

Chen, X., Liu, L., Yao, P., Yu, D., Hao, L., Sun, X. (2007): Effect of excessive iodine on immune function of lymphocytes and intervention with selenium. *Journal of Huazhong University of Science and Technology - Medical Sciences*, 27(4): 422-425.

Jelínek² P. (2003): Endokrinologie. In: Jelínek, P., Koudela, K. (Ed): *Fyziologie hospodářských zvířat*. MZLU Brno, Brno, 248-297 pp.

Jelínek, F., Krabačová, I., Kroupová, V. (2003): Assessment of functional activity of the bovine thyroid gland using morphometry and two markers of cellular proliferation. *Acta Veterinaria Brno*, 72(1): 11-16.

Junqueira, C. L., Carneiro, J., Kelley, R. O. (1997): *Základy histologie*. 7. vydání. H&H, Bratislava, 502 pp.

Kahl, S., Elsasser, T. H., Blum, J. W. (2000): Effect of endotoxin challenge on hepatic 5 deiodinase activity in cattle. *Domestic Animal Endocrinology*, 18, 133-143:

Kmiec, Z., Kotlarz, G., Smiechowska, B., Mysliwski, A. (1998): The effect of fasting and refeeding on thyroid follicle structure and thyroid hormone levels in young and old rats. *Archives of Gerontology and Geriatrics*, 26(2): 161-175.

Knobel, M., Medeiros-Neto, G. (2007): Relevance of iodine intake as a reputed predisposing factor for thyroid cancer. *Arquivos Brasileiros De Endocrinologia E Metabologia*, 51(5): 701-712.

Kohrle, J., Gartner, R. (2009): Selenium and thyroid. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism*, 23(6): 815-827.

Kohrle, J., Jakob, F., Contempre, B., Dumont, J. E. (2005): Selenium, the thyroid, and the endocrine system. *Endocrine Reviews*, 26(7): 944-954.

Koch, T. (1963): *Lehrbuch der Veterinär Anatomie II*. VEB Gustav Fisher Verlag, Jena, 327 pp.

Kolypetri, P., Noel, N. A., Carayanniotis, K. A., Carayanniotis, G. (2010): Iodine content of thyroglobulin in NOD.H2(h4) mice developing iodine-accelerated autoimmune thyroiditis. *Hormones-International Journal of Endocrinology and Metabolism*, 9(2): 151-160.

König, H. E., Liebich, H. G. (2002): Endokrinní žlázy (glandulae endocrinae). In: König, H. E., Liebich, H. G. (Ed): *Anatomie domácích savců*. 2.díl. Hajko&Hajková, Bratislava, 285-295 pp.

Kóňová, M., Békeová, E., Levkut, M. (1999a): The effects of chlorine intake on some morphometric parameters of the thyroid gland in lambs. *Acta Veterinaria Brno*, 68(3): 191-195.

Kóňová, M., Békeová, E., Levkut, M. (1999b): The effect of chlortetracycline hydrochloride on some morphometric parameters of the thyroid gland in lambs. *Veterinarni Medicina*, 44(7): 193-197.

Körber, R., Rossow, N., Otta, J. (1995): Beitrag zum Jodmangelsyndrom der landwirtschaftlichen Nutztiere Rind, Schaf und Schwein. *Monatshefte fuer Veterinaermedizin*, 4, 220-224.

Krabačová, I. (2002): Morfologické a funkční změny štítné žlázy při různé saturaci hospodářských zvířat jódem. *Disertační práce, ZF JU v Českých Budějovicích*, 120 pp.

Krabačová, I., Trávníček, J., Thér, R. (2000): The effect of excessive iodine intake and nitrates on morphometric parameters of chicken embryos thyroid gland. In: Anke, M., Arnhold, W., Bergmann, H., Bitsch, R., Dorn, W., Flachowsky, G., Gleis, M., Groppe, B., Grun, M., Gurtler, H., Jahreis, G., Lombeck, I., Luckas, B., Meissner, D., Merbach, W., Muller, M., Muller, R., Schafer, U. (Ed): *Mengen- Und Spurenelemente. 20th Workshop on Macro and Trace Element, 1.-2. 12 2000, Jena, Germany*, 749-752 pp.

Kratochvíl, P. (1998): Morfologické a funkční změny štítné žlázy v různých chovatelských podmínkách. *Disertační práce, ZF JU v Českých Budějovicích*, 175 pp.

Kroupová, V., Kursa, J., Matoušková, E., Šachová, E. (2000): Nezbytnost suplementace jódu ve výživě krav v horské oblasti Šumavy. *Silva Gabreta*, 5(1): 179-186.

Kroupová, V., Kratochvíl, P., Kursa, J., Trávníček, J., Kaufmann, S. (1998): Metabolic effect of iodine addition in laying hens. *Veterinarni Medicina*, 43(7) 207-212.

Kroupová, V., Trávníček, J., Staňková, M., Richterová, J., Dušová, H. (2013): Vývoj obsahu jódu v mléce v prvovýrobě. Zásobení jódem jako prevalence tyreopatií a zdroje dietární expozice, X. konference u příležitosti dne jódu, 15.5.2013, České Budějovice, the Czech Republic, 32-34 pp.

Krupp, P. P., Lee, K. P. (1988): The effects of dietary iodine on thyroid ultrastructure. *Tissue and Cell*, 20(1): 79-88.

Kuehnel, W. (2003): *Color Atlas of Cytology, Histology, and Microscopic Anatomy*. 11 vydání. Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 534 pp.

Kursa, J., Kroupová, V. (1975): Selenium content in cattle and in cattle and incidence areas of nutritional muscle dystrophy. *Veterinarni Medicina*, 20(2): 275-281.

Kursa, J., Herzig, I., Trávníček, J., Kroupová, V. (2004): The effect of high iodine supply in the Czech Republic on the iodine content in milk. 22. Workshop, Mengen- und Spurelemente, Fr. Schiller University Jena, Jena, Germany, 4.6.2004, 1080-1086 pp.

Kursa, J., Kroupová, V., Kratochvíl, P., Trávníček, J., Jezdinský, P. (1996): K diagnostice strumy skotu. *Veterinářství*, 34(3): 90-96.

Kursa, J., Trávníček, J., Rambeck, W. A., Kroupová, V., Vítovec, J. (2000): Goitrogenic effects of extracted rapeseed meal and nitrates in sheep and their progeny. *Veterinarni Medicina*, 45(5): 129-140.

Kursa, J., Herzig, I., Trávníček, J., Illek, J., Kroupová, V., Fuksová, S. (2010): Iodine and Selenium Contents in Skeletal Muscles of Red Deer (*Cervus elaphus*), Roe Deer (*Capreolus capreolus*) and Wild Boar (*Sus scrofa*) in the Czech Republic. *Acta Veterinaria Brno*, 79(3): 403-407.

Kvíčala, J. (2003): Zvýšení příjmu mikronutrientu selenu - utopie, fikce, prozřetelnost či nutnost? - 2. část. *Interní medicína pro praxi*, 7, 355-359.

La Perle, K. M. D., Capen, C. C. (2007): Endocrine system. In: McGavin, M. D., Zachary, J. F. (Ed): *Pathologic Basic of Veterinary Disease*, 4. vyd. Elsevier, St. Louis, 693-741 pp.

La Perle, K. M. D., Blomme, E. A. G., Capen, C. C., Jhiang, S. M. (2003): Effect of exogenous human sodium iodine symporter expression on growth of MATLyLu cells. *Thyroid*, 13(2): 133-140.

Langer, P. (1998): Patofyziologia štítnej žľázy. In: Hulín, P. (Ed): *Patofyziológia*. Slovak Academic Press, Bratislava, 829-849 pp.

Lebreton, P., Garnier, C., Radigue, P. E. (2006): Iodine deficiency in cattle. *Point Veterinaire*, 37(265): 48-55.

Límanová, Z. (2002): Štítná žláza. In: Marek, J., Brodanová, H. (Ed): *Endokrinologie, poruchy metabolismu a výživy*. Galén, Praha, 45-70 pp.

Límanová, Z., Němec, J., Zamrazil, V. (1995): *Nemoci štítné žlázy*. Galén, Praha, 197 pp.

Límanová, Z., Bezdíčková, D., Čáp, J., Diblík, P., Dušková, J., Hníková, O., Horáček, J., Jiskra, J., Rypáčková, B., Smutek, D., Štěpán, J., Svačina, Š., Vlček, P. (2006): *Štítná žláza*. Galén, Praha, 374 pp.

Luvizotto, M. C. R. (1984): Aspectos Morfológicos, Morfométricos e Funcionais da Tireoide e das Paratireodes na "Doença Periodontal" Das Bovinos. Escola de Veterinaria d UFMG, Belo Horizonte, Brazil, 124 pp.

Ma, T., Yu, Z. H., Lu, T. Z. (1982): High-iodine endemic goiter. Chinese Medical Journal, 95(1): 692-696.

Many, M. C., Deneff, J. F., Hanusi, S., Hamount, S. (1986): Increased follicular heterogeneity in experimental colloid goiter produced by refeeding iodine excess after thyroid hyperplasia. Endocrinology, 118, 637-644.

Marvan, F., Hampl, A., Hložánková, E., Kresan, J., Massany, J., Vernerová, E. (1992): Morfologie hospodářských zvířat. 1. vyd. Brázda, Praha, 304 pp.

McDonald, L. E. (1975): Veterinary Endocrinology and Reproduction. 2. vydání. Lea&Febiger, Philadelphia, 493 pp.

McGuire, M. A., Beede, D. K., Collier, R. J., Buonomo, F. C., DeLorenzo, M. A., Wilcox, C. J. (1991): Effects of acute thermal stress and amount of feed intake on concentrations of somatotropin insuline-like growth factor (IGF)-I and IGF-II, and thyroid hormones in plasma of lacting Holstein cows. Journal of Animal Science, 69, 102-103.

Meyer, U., Weigel, K., Schöne, F., Leiterer, M., Flachowsky, G. (2008): Effect of dietary iodine on growth and iodine status of growing fattening bulls. Livestock Science, 115 (2-3): 219-225.

Motlík, K. (1982): Endokrinní systém. In: Bednář, B. (Ed): Patologie. Avicenum, Praha, 682 pp.

Najbrt, R., Bednář, K., Červený, Č., Kaman, J., Mikyska, E., Štarha, O. (1982): Veterinární anatomie 2.díl. SZN, Praha, 599 pp.

Nařízení komise (ES) č. 1459 (2005): Nařízení komise (ES) č. 1459/2005 ze dne 8. září 2005, kterým se mění podmínky pro povolení některých doplňkových látek v krmivech, které patří do skupiny stopových prvků. Úřední věstník Evropské unie, 8-10.

Nouri, M., Mohamaadian, B., Pourjamshid, R. (2010): An Abattoir Study of Thyroid Histopathology in Ewes and their Fetus in Ahvaz City of Iran. Veterinary Research Forum, 1(1): 50-53.

Novoselec, J., Antunovič, Z., Šperanda, M., Steiner, Z., Šperanda, T. (2009): Changes of thyroid hormones concentration in blood of sheep depending on age and reproductive status. Italian Journal of Animal Science, 8, 208-210.

Novotný, E. (1966): Veterinární histologie, 1. vyd. SZN, Praha, 637 pp.

NRC, National Research Council (2001): Nutrient Requirements of Dairy Cattle, Seventh Revised Edition. National academic press, Washington DC, 381 pp.

NRC, National Research Council (2007): Nutrient requirements of small ruminants (sheep, goats, cervids, and new world camelids). National academic press, Washington DC, 384 pp.

Nudda, A., Battaccone, G., Decandia, M., Acciaro, M., Aghini-Lombardi, F., Frigeri, M., Pulina, G. (2009): The effect of dietary iodine supplementation in dairy goats on milk production traits and milk iodine content. *Journal of Dairy Science*, 92(10): 5133-5138.

Nussey, S. S., Whitehead, S. A. (2001): Endocrinology. An Integrated Approach. BIOS Scientific Publisher, Oxford, 358 pp.

Pailan, G. H., Singhal, K. K. (2007): Effect of dietary glucosinolates on nutrient utilization, milk yield and blood constituents of lactating goats. *Small Ruminant Research*, 71, 31-37.

Pauliková, I., Kováč, G., Bires, J., Paulik, S., Seidel, H., Nagy, O. (2002): Iodine toxicity in ruminants. *Veterinarni Medicina*, 47(12): 343-50.

Píchová, D., Pícha, J. (1967): Změny v histologickém obrazu štítné žlázy u skotu v období prenatalního vývoje. *Živočišná výroba*, 10(12): 777-786.

Pivník, L. (1972): Patologie žláz s vnitřní sekrecí. In: Zendulka, M. (Ed): Patologická anatomie. Vysoká škola veterinární v Brně, Brno, 208 pp.

Pokorný, J. (2001): Přehled fyziologie člověka I. Karolinum, Praha, 166 pp.

Popesko, P. (1992): Anatomia hospodárskych zvierat. Príroda, Bratislava, 693 pp.

Reece, W. O. (2011): Fyziologie a funkční anatomie domácích zvířat. 2. přepracované vyd. Grada Publishing, Praha, 480 pp.

Richter, P. (1989): Vergleichende, morphologische Studie an der Glandula thyroidea der Mammalia unter Berücksichtigung von Form, Grösse, Lage, Gefäsversorgung, Inervation und histologischen Aufbau. Disertační práce, Justus-Liebig-Universität Giessen, 257 pp.

Ruffin, D. C., Christmann, U., Pugh, D. G. (2012): Endocrinology system In: Pugh, D. G., Baird, A. N. (Ed): *Sheep and Goat Medicine*, 2. vyd. Elsevier Saunders, Philadelphia, 231-259 pp.

- Řehůrková, I., Ruprich, J. (2013): Dietární expozice jódu populace ČR a nejdůležitější dietární zdroje. Zásobení jódem jako prevalence tyreopatií a zdroje dietární expozice, X. konference u příležitosti dne jódu, 15.5.2013, České Budějovice, the Czech Republic, 13-15 pp.
- Saiyari, M., Mandavi, H., Mayahi, M. (1995): Spontaneous lesions in the thyroid of sheep and goats in Iran. *Revue d' Elevage de Medicine Veterinaire des Pays Tropicaux*, 48(3): 231-232.
- Salem, I. A., Kamel, G., Ali, A. M. A., Hassan, A. H. S., Selim, A. A. A. (1986): Quantitative histological studies on the thyroid gland of ewe during estrus cycle and pregnancy. *Assiut Journal of Veterinary Medicine*, 17(34): 45-51.
- Samuelson, D. A. (2007): *Textbook of veterinary histology*. Elsevier, St. Louis, 546 pp.
- Serakides, R., Nunes, V. A., Santos, R. L., Cassali, G. D., Neto, P. P. C. (1999): Histomorphometry and quantification of nucleolar organizer regions in bovine thyroid containing methylthiouracil residues. *Veterinary Pathology*, 36(6): 574-82.
- Shan, Z., Teng, W., Lai, Y. (2009): Experimental Studies on the Effect of Excessive Iodine Supplementation on the Thyroid Tissue. In: Victor, R. P., Gerard, N. B., Ronald, W. (Ed): *Comprehensive Handbook of Iodine*. Academic Press, San Diego, 877-886 pp.
- Sládek, Z. (2000): *Anatomie a histologie hospodářských zvířat, Přehled obrazů mikroskopovaných preparátů*. MZLU Brno, Brno, 58 pp.
- Sokkar, S. M., Soror, A. H., Ahmed, Y. F., Ezzo, O. H., Hamouda, M. A. (2000): Pathology and biochemical studies on experimental hypothyroidism in growing lambs. *Journal of Veterinary Medicine*, 47, 639-652.
- Sommer, A., Čerešňáková, Z., Frydrych, Z., Králík, O., Králíková, Z., Krása, A., Pajdaš, M., Petrikovič, P., Pozdíšek, J., Šimek, M., Třináctý, J., Vencel, B., Zeman, L. (1994): *Potřeba živin a tabulky výživové hodnoty krmiv pro přežvýkace*. ČAZV, VÚVZ Pohořelice, 196 pp.
- Sova, Z. (1971): Žlázy s vnitřní sekrecí. In: Komárek, V., Sova, Z. (Ed): *Anatomie a fyziologie hospodářských zvířat*. Druhé přepracované vydání. Státní zemědělské nakladatelství, Praha, 271-305 pp.
- Sova, Z., Bukvaj, J., Koudela, K., Kroupova, J., Pješčák, M., Podaný, J. (1990): *Fyziologie hospodářských zvířat*, 1. vyd. SZN, Praha, 511 pp.
- Šterzl, I. (2006): *Přehledná imunoendokrinologie*. Maxdorf, Praha, 143 pp.

Teng, W. P., Shan, Z. Y., Teng, X. C., Guan, H. X., Li, Y. H., Teng, D., Jin, Y., Yu, X. H., Fan, C. L., Chong, W., Yang, F., Dai, H., Yu, Y., Li, J., Chen, Y. Y., Zhao, D., Shi, X. G., Hu, F. N., Mao, J. Y., Gu, X. L., Yang, R., Tong, Y. J., Wang, W. B., Gao, T. S., Li, C. Y. (2006): Effect of iodine intake on thyroid diseases in China. *New England Journal of Medicine*, 354(26): 27, 83-93.

Teng, X. C., Shan, Z. Y., Teng, W. P., Fan, C. L., Wang, H., Guo, R. (2009): Experimental study on the effects of chronic iodine excess on thyroid function, structure, and autoimmunity in autoimmune-prone NOD.H-2h4 mice. *Clinical and Experimental Medicine*, 9(1): 51-59.

Tiirats, T. (1997): Thyroxin, triiodothyronine and reverse-triiodothyronine concentrations in blood plasma in relation to lactational stage, milk yield, energy and dietary protein intake in Estonian dairy cows. *Acta Veterinaria Scandinavia*, 38, 339-348.

Todini, L. (2007): Thyroid hormones in small ruminants: effects of endogenous, environmental and nutritional factors. *Animal*, 1, 997-1008.

Trávníček, J., Kroupová, V., Šoch, M. (2004): Iodine content in bulk feeds in western and southern Bohemia. *Czech Journal of Animal Science*, 49(11): 483-488.

Trávníček, J., Kroupová, V., Kratochvíl, P., Krabačová, I. (1999): The effect of superfluous iodine intake and strumigenic factors on histometric parameters of thyroid gland in layers. *Veterinarni Medicina*, 44(6): 177-182.

Trávníček, J., Kroupová, V., Kursá, J., Illek, J., Thér, R. (2001): Effects of rapeseed meal and nitrates on thyroid functions in sheep. *Czech Journal of Animal Science*, 46(1): 1-10.

Trávníček, J., Herzig, I., Kursá, J., Kroupová, V., Navrátilová, M. (2006): Iodine content in raw milk. *Veterinarni Medicina*, 51(9): 448-453.

Wagner, M. S., Wajner, S. M., Maia, A. L. (2008): The role of thyroid hormone in testicular development and function. *Journal of Endocrinology*, 199(3): 351-365.

Wajner, S. M., Wagner, M. S., Maia, A. L. (2009): Clinical implications of altered thyroid status in male testicular function. *Arquivos Brasileiros De Endocrinologia E Metabologia*, 53(8): 976-982.

Wolman, S. H., Herveg, J. P., Tachiwaki, O. (1990): Histologic changes in tissue component of hyperplastic thyroid gland during its involution in the rat. *American Journal of Anatomy*, 189(1): 35-44.

Zamrazil, V. (2004): Problematika optimální saturace jodem. *DMEV Supplementum*, 2, 27-31.

Zamrazil, V., Čeřovská, J., Bílek, R., Dvořáková, M., Hoskocová, P., Šterzl, I., Vavrejnová, V. (2007): Výsledky sledování zásobní jódem ve vybraných lokalitách. Jódový deficit a jeho prevence v České republice, 3.3. 2007, České Budějovice, the Czech Republic, 14-20 pp.