

В.П.Пішак, А.А.Ходоровська, Л.Я.Федонюк, Н.П.Пентелейчук

МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН ЩИТОПОДІБНОЇ ЗАЛОЗИ В УМОВАХ СТРЕСУ НА ФОНІ УВЕДЕННЯ МЕЛАТОНІНУ В РІЗНІ ТЕРМІНИ ДОБИ

Кафедра медичної біології, генетики та гістології (зав. – чл.-кор. АІН України, проф. В.П.Пішак)
Буковинського державного медичного університету, м. Чернівці

Резюме. Вивчені особливості морфофункціонального стану щитоподібної залози в умовах іммобілізаційного стресу. Доведена протекторна роль мелатоніну

в механізмах корекції відхилень стану щитоподібної залози при стресі.

Ключові слова: щитоподібна залоза, стрес, мелатонін.

Вступ. На сьогоднішній день суспільство зазнає зростаючого стресорного навантаження. Все більшої актуальності набуває проблема вивчення механізмів розвитку патологічних змін внаслідок дії стресорних факторів, а також пошуку способів адаптації організму та його захисту від стресу [1,3]. Основою розвитку патологічних станів при стресі є тривалий вплив гормонів, які беруть участь у формуванні стресової реакції і викликають порушення в обміні ліпідів, вуглеводів та електролітів [2]. Досягнуто певних успіхів у з'ясуванні значення гіпофіз-наднирничкової системи при стресі [4]. Однак зміни метаболізму і функції інших відділів нейроендокринної системи, зокрема систем гіпоталамус-аденогіпофіз-щитоподібна залоза та епіфіз-щитоподібна залоза, вивчені недостатньо [7].

Мета дослідження. Вивчити особливості морфофункціонального стану щитоподібної залози в умовах стресу та визначити роль мелатоніну в механізмах корекції відхилень морфофункціонального стану щитоподібної залози при стресі за допомогою сучасних морфологічних та гормональних досліджень.

Матеріал і методи. Експериментальні дослідження проведено на 28 білих статевозрілих щурах-самцях масою 100-150 г. Тварини знаходилися на стандартному раціоні в приміщенні віварію при кімнатній температурі з вільним доступом до їжі та води. Тварини розподілені на три експери-

ментальних групи: 1-ша група (n=7) – контрольна; 2-га група (n=7) – тварини, які піддавалися стресу; 3-тя група (n=14) – тварини, яким перед стресом вводили мелатонін. З метою вивчення ефекту мелатоніну залежно від часу його введення 3 група розподілена на дві підгрупи: підгрупа M14 (n=7) – тварини, яким перед стресом вводили мелатонін у 14.00, підгрупа M20 (n=7) – тварини, яким перед стресом вводили мелатонін у 20.00. Стрес моделювали шляхом 1-годинної іммобілізації тварин у пластикових клітках. Мелатонін тваринам вводили внутрішньошлунково за допомогою зонда в дозі 1 мг/кг за 1 годину до стресу. Забір матеріалу для світлооптичних досліджень щитоподібної залози згідно із загальноприйнятими методиками. Гістологічні зрізи товщиною 5-6 мкм зафарбовували гематоксилін-еозином.

Для вивчення тиреоїдного гомеостазу визначали вміст вільних тиреоїдних гормонів (Т₃, Т₄), тиреотропного гормону (ТТГ) та кортизолу в плазмі крові за допомогою імуноферментного аналізу з використанням наборів реагентів. Морфологічні особливості щитоподібної залози визначали за допомогою морфометричного методу з використанням програми для аналізу зображень „ВидеоТест-Размер 5.0”. Вивчали об'єм фолікула, площі фолікула, колоїду, фолікулярного епітелію, тироцита, середню висоту тироцита, фолікулярно-колоїдний індекс та індекс накопичення

колоїду [5]. Отримані результати оцінювали за допомогою дескриптивного та дисперсійного аналізів. Для множинного порівняння груп застосовували критерій Ньюмена-Кейлса.

Результати дослідження та їх обговорення.

Дослідження структурної організації щитоподібної залози тварин, яким вводили перед стресом мелатонін о 14.00 год показали, що паренхіма залози представлена фолікулами, які щільно прилягають один до одного. Переважаюча більшість з них заповнена колоїдом. У частині фолікулів зустрічаються резорбційні вакуолі, які нерівномірно розташовані по периметру накопичення колоїду. Висота фолікулярного епітелію за формою наближається до кубічної. Цитоплазма еозинофільна, ядра округлої та сплющеної форми.

Морфометричні дослідження показали, що у тварин, яким перед стресом вводили мелатонін о 14.00 год, вірогідно зменшується площа фолікула, колоїду, фолікулярного епітелію, тироцита порівняно з інтактними щурами. Вказані зміни морфометричних показників цієї групи подібні до величин у стресових щурів без попереднього введення мелатоніну (табл. 1).

Розрахунок морфологічних індексів функціональної активності щитоподібної залози показав, що у щурів даної групи спостерігається вірогідне зменшення фолікулярно-колоїдного індексу порівняно з тваринами, які піддавалися 1-годинній іммобілізації без попереднього введення мелатоніну та збільшення індексу накопичення колоїду. Такі зміни морфологічних індексів вказують на менш виражену активацію щитоподібної залози на стрес у щурів, яким попередньо вводили мелатонін о 14.00 год, порівняно зі стресованими щурами, що його не отримували (табл. 1).

Гормональні дослідження тварин за умов іммобілізаційного стресу на фоні попереднього введення мелатоніну о 14.00 год показали, що вміст вільного T_3 у плазмі крові є майже однаковим з аналогічними показниками тварин контрольної групи та тварин, які зазнавали стресу. Вміст вільного T_4 у плазмі крові практично не відрізнявся від контрольного значення, натомість був значно меншим, ніж у тварин, які піддавалися стресу ($6,14 \pm 0,806$ та $9,47 \pm 2,594$ пмоль/л відповідно, $p < 0,02$). Визначається значне зростання конверсії тиреоїдних гормонів (vT_3/vT_4) порівняно з групою стресованих тварин ($3,13 \pm 0,590$ та $1,14 \pm 0,281$ відповідно, $p < 0,05$). Вміст ТТГ у тварин, яким перед стресом вводили мелатонін, практично не відрізняється від контрольного (табл. 2).

Наведені результати гормональних досліджень тиреоїдного статусу щурів, яким перед стресом вводили мелатонін о 14.00 год, також вказують на меншу активацію щитоподібної залози у відповідь на стрес. До того ж у цій групі відбувається перебудова тиреоїдного гомеостазу шляхом зростання конверсії тиреоїдних гормонів.

Вміст кортизолу в плазмі крові щурів, яким перед іммобілізацією вводили мелатонін о

14.00 год, вірогідно нижчий за аналогічний показник стресованих щурів, які його не отримували. Крім того, глюкокортикоїдна функція наднирникових залоз тварин цієї групи практично не відрізнялася від контрольних значень. Низький рівень активації гіпоталамо-гіпофізарно-надниркової системи в стресованих щурів, які отримували мелатонін, вказує на його виражений стреспротективний ефект. Ймовірно, що саме антистресорна дія мелатоніну зумовлює менш виражену активацію щитоподібної залози у відповідь на стрес у тварин цієї групи.

Структурна організація щитоподібної залози тварин, яким вводили перед стресом мелатонін о 20.00 год, мало відрізняється від такої у тварин, які отримували перед стресом мелатонін о 14.00 год. Так, паренхіма залози представлена фолікулами, які тісно прилягають один до одного. Провіт фолікулів заповнений колоїдом помірної щільності та містить десквамовані клітини фолікулярного епітелію. У більшості фолікулів колоїд щільно прилягає до поверхні тироцитів. Висота фолікулярного епітелію за формою наближається до кубічної. Цитоплазма еозинофільна, ядра округлої та сплющеної форми різні за розмірами.

Морфометричні дослідження фолікулів щитоподібної залози тварин, яким перед стресом вводили мелатонін о 20.00 год, встановили такі особливості: вірогідно зменшуються площі фолікула, колоїду, фолікулярного епітелію та тироцита порівняно з контрольною групою (табл. 3). Зміни морфологічних індексів функціональної активності щитоподібної залози тварин цієї групи подібні до таких у щурів, яким перед стресом не вводили мелатонін. Проте фолікулярно-колоїдний індекс є вірогідно меншим ($5,68 \pm 0,85$ та $7,47 \pm 0,45$ відповідно, $p < 0,05$), а індекс накопичення колоїду – більшим ($1,87 \pm 0,03$ і $1,76 \pm 0,03$ мкм² відповідно, $p < 0,05$). Не виявлено статистично вірогідної різниці між значенням фолікулярно-колоїдного індексу щурів, яким перед стресом вводили мелатонін о 20.00 год, та аналогічним показником інтактних тварин (табл. 3).

Зазначені зміни морфометричних показників вказують на менш виражене підвищення функціональної активності щитоподібної залози у відповідь на стресове навантаження при введенні тваринам перед стресом мелатоніну о 20.00 год.

Аналіз імуноферментних досліджень у тварин в умовах іммобілізаційного стресу на фоні попереднього введення мелатоніну о 20.00 год показали, що вміст вільного T_4 у сироватці крові у тварин цієї групи практично не відрізнявся від контрольного значення, натомість був значно меншим, ніж у тварин, які зазнавали стресу без попереднього введення мелатоніну ($4,76 \pm 0,191$ і $12,38 \pm 2,548$ пмоль/л відповідно, $p < 0,02$). Вміст вільного T_3 у сироватці крові тварин цієї групи є майже однаковим з аналогічними показниками тварин контрольної та у тварин, які піддавалися стресу. У цій групі визначається зростання конверсії тиреоїдних гормонів порівняно з групою

Таблиця 1

Морфометричні показники щитоподібної залози в умовах стресу на фоні попереднього уведення мелатоніну о 14.00 год (M±SEM)

Показник	Інтактні шури, n=7	Стресовані шури, n=7	M14, шури, n=7
Об'єм фолікула, мкм ³	41995,0±3327,9	37849,0±1693,5	44425,0±2513,8
Площа фолікула, мкм ²	2100,0±50,25	1519,0±42,13 *	1574,0±52,15 *
Площа колоїду, мкм ²	518,1±22,18	283,2±19,58 *	386,3±25,35 * #
Площа фолікулярного епітелію, мкм ²	1582,0±35,11	1236,0±29,25 *	1188,0±30,11 *
Площа тироцита, мкм ²	157,7±3,16	153,2±3,36	134,6±2,44 * #
Середня висота тироцита, мкм	12,28±0,18	12,52±0,18	11,78±0,13 * #
Фолікулярно-колоїдний індекс	3,80± 0,15	7,47± 0,45	6,01±0,48 * #
Індекс накопичення колоїду	2,12 ±0,03	1,76± 0,03	1,90 ±0,03* #

Примітка. * – різниця вірогідна щодо контролю (p<0,05); # – різниця вірогідна щодо стресу (p<0,05); M14 – група тварин, яким перед стресом вводили мелатонін о 14.00 год

Таблиця 2

Вміст гормонів щитоподібної залози в плазмі крові в умовах стресу на фоні попереднього уведення мелатоніну о 14.00 год (M±SEM)

Показник	Інтактні шури, n=7	Стресовані шури, n=7	M14, шури, n=7
Вільний T ₃ , пмоль/л	12,76±1,586	12,533±2,443	11,74±1,898
Вільний T ₄ , пмоль/л	6,143±0,806	12,389±2,548 *	3,947±0,308 #
Відношення вT ₃ /вT ₄	2,533±0,412	1,144±0,281*	3,130±0,590 #
ТТГ, мМО/л	0,118±0,053	0,232±0,116	0,163±0,069
Відношення ТТГ/вT ₄	2,120±0,821	2,035±0,957	4,452±2,013

Примітка. * – різниця вірогідна щодо контролю (p<0,05); # – різниця вірогідна щодо стресу (p<0,05); M14 – група тварин, яким перед стресом вводили мелатонін о 14.00год

Таблиця 3

Морфометричні показники щитоподібної залози в умовах стресу на фоні попереднього уведення мелатоніну о 20.00 год (M±SEM)

Показник	Інтактні шури, n=7	Стресовані шури, n=7	M20, шури, n=7
Об'єм фолікула, мкм ³	41995,0±3327,9	37849,0±1693,5	38925,0±1640,4
Площа фолікула, мкм ²	2100,0±50,25	1519,0±42,13 *	1465,0±37,22 *
Площа колоїду, мкм ²	518,1±22,18	283,2±19,58 *	337,4±15,75 *
Площа фолікулярного епітелію, мкм ²	1582,0±35,11	1236,0±29,25 *	1127,0±25,53 * #
Площа тироцита, мкм ²	157,7±3,16	153,2±3,36	149,6±2,70
Середня висота тироцита, мкм	12,28±0,18	12,52±0,18	11,89±0,17 #
Фолікулярно-колоїдний індекс	3,80± 0,15	7,47±0,45 *	5,68±0,85 #
Індекс накопичення колоїду	2,12 ±0,03	1,76±0,03 *	1,87±0,03* #

Примітка. * – різниця вірогідна щодо контролю (p<0,05); # – різниця вірогідна щодо стресу (p<0,05); M20 – група тварин, яким перед стресом вводили мелатонін о 20.00 год

Таблиця 4

Вміст гормонів щитоподібної залози в плазмі крові в умовах стресу на фоні попереднього уведення мелатоніну о 20.00 год (M±SEM)

Показник	Інтактні шури, n=7	Стресовані шури, n=7	M20, шури, n=7
Вільний T ₃ , пмоль/л	12,76±1,586	12,53±2,443	11,06±1,355
Вільний T ₄ , пмоль/л	6,14±0,806	12,38±2,548 *	4,76±0,191 #
Відношення вT ₃ /вT ₄	2,53±0,412	1,14±0,281*	2,29±0,204 #
ТТГ, мМО/л	0,11±0,053	0,23±0,116	0,15±0,056
Відношення ТТГ/вT ₄	2,12±0,821	2,03±0,957	3,43±1,410

Примітка. * – різниця вірогідна щодо контролю (p<0,05); # – різниця вірогідна щодо стресу (p<0,05); M20 – група тварин, яким перед стресом вводили мелатонін о 20.00 год

стресованих тварин (2,29±0,204 і 1,14±0,281 відповідно, p<0,05). Вміст ТТГ та відношення ТТГ/вільний T₄ у тварин, яким перед стресом вводили мелатонін, практично не відрізняється від аналогічних показників інтактних тварин та тварин, яким перед стресом не вводили мелатонін (табл. 4).

Наведені результати гормональних досліджень тиреоїдного статусу шурів, яким перед

стресом вводили мелатонін о 20.00 год, також вказують на меншу активацію щитоподібної залози у відповідь на стрес. Як і в групі, яким перед іммобілізацією вводили мелатонін о 14.00 год, у цій групі відбувається перебудова тиреоїдного гомеостазу шляхом зростання конверсії тиреоїдних гормонів.

Вміст кортизолу в плазмі крові шурів з фізіологічною функцією епіфіза, яким перед іммобілізацією вводили мелатонін о 20.00 год, вірогідно не відрізнявся від аналогічного показника в стресованих шурів, які його не отримували. Натомість він вірогідно більший, ніж в інтактних тварин, що свідчить про відсутність антистресорного ефекту мелатоніну при його введенні о 20.00 год.

Висновки

1. У тварин, які перед стресом отримували мелатонін, виявили помірні зміни секреторної активності щитоподібної залози у відповідь на стрес.

2. Відсутність помітної різниці між показниками тиреоїдного гомеостазу шурів, яким перед стресом вводили мелатонін о 14.00 год та тваринами, яким його вводили о 20.00 год, дозволяє стверджувати про відсутність хронозалежності антистресорного ефекту мелатоніну щодо щитоподібної залози.

Перспективи подальших досліджень. Перспективним у цьому напрямку є вивчення тиреоїдного гомеостазу в умовах стресу різної тривалості на фоні зміненої функції шишкоподібної залози.

Література

1. Арушанян Э.Б. Участие эпифиза в антистрессовой защите мозга // Усп. физиол. наук. – 1996. – Т. 27, №3. – С.31-48.
2. Болезни щитовидной железы: Пер. с англ. / Под ред. Л.И. Бравермана. – М.: Медицина, 2000. – 432 с.
3. Гемопоз, гормоны, эволюция / Новицкий В.В., Козлов Ю.А., Лаврова В.С. и др. – Новосибирск: Наука, 1997. – 432 с.
4. Таракулов Я.Х., Буриханов Р.Б., Патхитдинов П.П. и др. Влияние иммобилизационного стресса на уровень секреции тиреоидных гормонов // Пробл. эндокринологии. – 1993. – Т. 6, №2. – С.47-51.
5. Хмельницкий О.К. Цитологическая и гистологическая диагностика заболеваний щитовидной железы. Рук-во. – СПб.: СОТИС, 2002. – 288 с.
6. Шафиркин А.В. Компенсаторные резервы организма и здоровье населения в условиях хронических антропогенных воздействий и длительного психоэмоционального стресса // Физиол. человека, – 2003. – Т.29, №6. – С.12-22.
7. Tsigos C., Chrousos G.P. Hypothalamic-pituitary-adrenal axis, neuroendocrine factors and stress // J. Psychosom. Res. – 2002. – Vol. 53(4). – P. 865-871.

THE MORPHOFUNCTIONAL CONDITION OF THE THYROID GLAND UNDER STRESS – INDUCATION CONDITIONS AGAINST A BACKGROUND OF MELATONIN ADMINISTRATION DURING DEFERENT PERIODS OF A 24-HOUR PERIOD

V.P.Pishak, A.A.Khodorovs'ka, L.Ya.Fedoniuk, N.P.Penteleichuk

Abstract. The specific characteristics of the thyroid morphofunctional condition. Have been studied under immobilization stress conditions. A protective role of melatonin in the mechanisms of correcting changes of the condition of the thyroid gland has been demonstrated under stress.

Key words: thyroid gland, stress, melatonin.

Bukovinian State Medical University (Chernivtsi)
Buk. Med. Herald. – 2006. – Vol.10, №4. – P.137-140

Падійшла до редакції 13.06.2006 року