

*В.П.Пішак, А.А.Ходоровська*

## ТИРЕОЇДНИЙ ГОМЕОСТАЗ В УМОВАХ СТРЕСУ НА ФОНІ ВВЕДЕННЯ МЕЛАТОНІНУ

Кафедра медичної біології, генетики та гістології  
(зав. - чл.-кор. АПН України, проф. В.П.Пішак)  
Буковинської державної медичної академії

**Резюме.** Вивчалися особливості тиреоїдного гомеостазу в умовах іммобілізаційного стресу. Доведена протекторна роль мелатоніну в механізмах корекції відхилень морфофункціонального стану щитоподібної залози при стресі.

**Ключові слова:** тиреоїдний гомеостаз, щитоподібна залоза, вільні тиреоїдні гормони, тиреотропний гормон, стрес, мелатонін.

**Вступ.** Сучасне технократичне суспільство зазнає зростаючого стресорного навантаження. Тому набуває все більшої актуальності проблема вивчення механізмів розвитку патологічних змін внаслідок дії стресорних факторів, а також пошуку способів адаптації організму та його захисту від стресу [8]. 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 [10]. Досягнуто певних успіхів у з'ясуванні значення гіпофізарно-наднирничкової системи при стресі [15]. Однак зміни метаболізму і функції інших відділів нейроендокринної системи, зокрема систем гіпоталамус-аденогілофіз-щитоподібна залоза та епіфіз-щитоподібна залоза, вивчені недостатньо [13].

Нашими попередніми дослідженнями показані зміни морфологічних особливостей та морфометричних показників щитоподібної залози (ЩЗ) при іммобілізаційному стресі на фоні введення мелатоніну [7]. Проте морфометричні показники ЩЗ вивчалися за допомогою звичайного окуляр-мікрометра, що супроводжується певною погрешністю. До того ж важко об'єктивізувати дані щодо функціонального стану ЩЗ лише на підставі морфологічних досліджень.

**Мета дослідження.** Вивчити особливості тиреоїдного гомеостазу 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, з вихідною масою тіла 100-150 г. Тварини знаходилися на стандартному раціоні в приміщенні віварію при кімнатній температурі з вільним доступом до їжі та води. Дослідження проведені взимку (світловий режим 12 год світло : 12 год темрява). Тварини були розподілені на три експериментальних 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-тя група була 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 ("Вита-мелатонін", АО "Киевский витаминный завод", Україна). Дослідних тварин сакрифували шляхом декапітації під ефірним наркозом. Для вивчення тиреоїдного гомеостазу визначали секреторну активність щитоподібної залози (вміст вільних тиреоїдних гормонів у крові) та її морфологічні особливості, а також тиреотропну функцію гіпофіза (вміст ТТГ у крові). Вміст ТТГ, вільних тироксину ( $vT_4$ ) та трийодтироніну ( $vT_3$ ), кортизолу в сироватці крові визначали за допомогою імуноферментного аналізу з використанням наборів реагентів ТТГ-ИФА, СвТ4-ИФА, СвТ3-ИФА, Кортизол-ИФА (ООО "Хема-Медика", Росія). Для виконання морфологічних досліджень виділяли щитоподібну залозу (праву частину) та фіксували її в 10%-ному розчині формаліну впродовж 3 діб з наступною заливкою в парафін. Виготовляли гістологічні зрізи товщиною  $6,0 \pm 1,0$  мкм та зафарбовували гематоксилін-еозином. Вивчали морфологічні особливості щитоподібної залози та визначали її морфометричні показники: діаметр, об'єм фолікула (Vf), площу фолікула (Sf),

колоїду (Sc), фолікулярного епітелію (Se), тироцита (Sth); середню висоту тироцита (Hth), фолікулярно-колоїдний індекс (ФКІ) та індекс накопичення колоїду (ІНК) [6]. Морфометрію щитоподібної залози виконували з використанням програми для аналізу зображень "ВидеоТест-Размер 5.0" (ООО ВидеоТест, Росія). Зображення зрізів щитоподібної залози отримували за допомогою відеосистеми, що створена та розроблена авторами і складається з цифрової фотокамери "OLYMPUS μ[mju:] 410 digital" (Японія), штативу-триноги "Continent B1", мікроскопа "БІОЛАМ", USB-кабелю та персонального комп'ютера "Athlon XP 2.0". Отримані результати оцінювали за допомогою описового та дисперсійного аналізів. Для множинного порівняння груп застосовували критерій Ньюмена-Кейлса.

**Результати дослідження та їх обговорення.** Результати описового морфологічного дослідження показали, що у тварин 2-ї групи спостерігається переважання дрібних фолікулів у ЩЗ порівняно із контрольною групою, значне сплюснення фолікулярного епітелію, виражена його десквамація. Також спостерігалися розлади кровопостачання ЩЗ у вигляді венозного застою (рис. 1). У морфологічній картині ЩЗ тварин, які перед стресуванням отримували мелатонін, спостерігаються зміни, подібні до змін у тварин 2-ї групи, але вони носять не такий виражений характер. Причому в мікроструктурі ЩЗ відсутні десквамативні процеси та явища венозного застою (рис. 2).

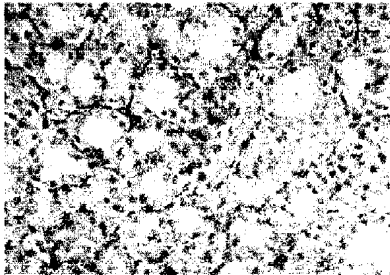


Рис. 1. Гістологічні зміни фолікулів щитоподібної залози в умовах іммобілізаційного стресу. Об. 15, ок. 20

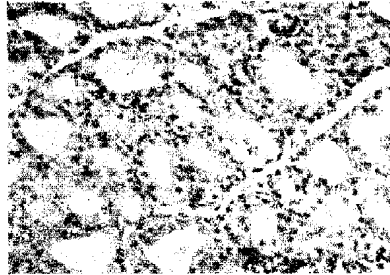


Рис. 2. Структурна організація фолікулів щитоподібної залози в умовах іммобілізаційного стресу на фоні введення мелатоніну. Об. 15, ок. 20

При морфометричному дослідженні ЩЗ (табл. 1) у тварин 2-ї групи спостерігається вірогідне зменшення площі фолікулів, колоїду та фолікулярного епітелію порівняно із контрольною групою. Також визначаються істотні зміни індексів морфофункціонального стану щитоподібної залози. Так, у тварин даної групи виявляються збільшення фолікулярно-колоїдного індексу (відношення площі фолікулярного епітелію до площі колоїду) майже вдвічі порівняно із інтактними тваринами ( $7,47 \pm 0,18$  та  $3,80 \pm 0,15$  відповідно,  $p < 0,01$ ) та зменшення індексу накопичення колоїду (відношення середнього діаметра фолікула до подвоєної середньої висоти тироцита) на 17% ( $1,76 \pm 0,03$  та  $2,12 \pm 0,03$  відповідно,  $p < 0,05$ ). Об'єм фолікула, площа та середня висота тироцита в 2-й групі практично не відрізнявся від аналогічних контрольних показників.

У тварин, яким перед стресуванням вводили мелатонін (3-тя група), спостерігаються схожі зміни морфометричних показників ЩЗ, але вони мають свої особливості (табл. 1). У цій групі визначається вірогідне зменшення площі фолікула, колоїду, фолікулярного епітелію та тироцита порівняно із контрольною групою. Однак площа колоїду є більшою на 22% у порівнянні з тваринами 2-ї групи ( $361 \pm 14,7$  та  $283 \pm 19,5$   $\mu\text{m}^2$  відповідно,  $p < 0,02$ ), а площа тироцита меншою на 8% ( $142 \pm 1,8$  та  $153 \pm 3,3$   $\mu\text{m}^2$  відповідно,  $p < 0,05$ ). Вказані зміни відбувалися, в основному, у тих тварин, яким мелатонін вводили о 14.00 (підгрупа М14). Середня висота тироцита в 3-й групі практично не відрізняється від контрольних величин, але є вірогідно менш від аналогічного показника в 2-й групі ( $11,83 \pm 0,11$  та  $12,52 \pm 0,18$   $\mu\text{m}^2$  відповідно,  $p < 0,05$ ). Визначається збільшення фолікулярно-колоїдного індексу порівняно із контрольною групою, але різниця між групами невірогідна. Спостерігається зменшення індексу накопичення колоїду в тварин 3-ї групи порівняно з інтактними тваринами, але в той же час цей показник є більшим, ніж у тварин 2-ї групи ( $1,88 \pm 0,02$  та  $1,76 \pm 0,03$   $\mu\text{m}^2$  відповідно,  $p < 0,05$ ).

Зазначені вище зміни морфологічної будови та морфометричних показників вказують на підвищення функціональної активності ЩЗ та значну її мобілізацію в щурів в умовах гострого іммобілізаційного стресу (2-га група). Про це свідчать наяв-

Таблиця 1

## Морфометричні показники ЩЗ інтактних та дослідних шурів (M±SEM)

Група	Vf	Sf	Sc	Sc	Sth	Hth	ФКІ	ІНК
1-ша група	41995±3327.9	2100±50.25	518,1±22,18	1582±35,11	157,7±3,16	12,28±0,18	3,80±0,15	2,12±0,03
2-га група	37849±1693,5	1519±42,13 *	283,2±19,58 *	1236±29,25 *	153,2±3,36	12,52±0,18	7,47±0,45 *	1,76±0,03 *
3-тя група	41586±1486,2	1518±31,79 *	361,1±14,75 *	1157±19,67 *	142,3±1,86 * #	11,83±0,11 #	5,84±0,50	1,88±0,02 * #
M 14	44425±2513,8	1574±52,15 *	386,3±25,35 * #	1188±30,11 *	134,6±2,44 * #	11,78±0,13 #	6,01±0,48	1,90±0,03 * #
M 20	38925±1640,4	1465±37,22 *	337,4±15,75 *	1127±25,53 * #	149,6±2,70	11,89±0,17 #	5,68±0,85	1,87±0,03 * #

Примітка. \* - різниця вірогідна відносно контрольної групи; # - різниця вірогідна відносно стресу

Таблиця 2  
Вміст гормонів ЩЗ у сироватці крові інтактних та дослідних шурів (M±SEM)

Група	n	ві4, пмоль/л	ві3, пмоль/л	ві3/ві4	ТТГ, мМО/л
1-ша група	7	6,143±0,806	12,76±1,386	2,535±0,412	0,118±0,053
2-га група	7	9,473±2,594 *	12,07±2,116	1,544±0,341	1,065±0,801
3-тя група	14	4,355±0,208 #	11,4±1,124	2,714±0,321 #	0,158±0,043
M 14	7	3,947±0,308 #	11,7±1,898	3,130±0,590 #	0,163±0,069
M 20	7	4,764±0,191 #	11,06±1,355	2,298±0,204	0,154±0,056

Примітка. \* - різниця вірогідна відносно контрольної групи;

# - різниця вірогідна відносно стресу

ність у мікроструктурі ЩЗ дрібних фолікулів, зменшення їх площі, явищ десквамації фолікулярного епітелію та розладу кровопостачання. Більш точним підтвердженням гіперфункції ЩЗ при стресі у тварин 2-ї групи є зміни морфологічних індексів активності ЩЗ: значне збільшення фолікулярно-колоїдного індексу та зменшення індексу накопичення колоїду. У тварин, які перед стресуванням отримували мелатонін, відбуваються схожі зміни мікроструктури ЩЗ, але, як уже зазначалося, вони є менш вираженими. Особливо це помітно при порівнянні морфологічних індексів активності ЩЗ.

Для об'єктивізації уявлень про функціональний стан ЩЗ в умовах стресу на фоні введення мелатоніну було досліджено вміст вільних тиреоїдних гормонів та ТТГ в сироватці крові за допомогою імуноферментного методу.

Аналіз результатів імуноферментних досліджень (табл. 2) показав, що у тварин 2-ї дослідної групи спостерігається підвищення вмісту вТ<sub>4</sub> в сироватці крові на 54% ( $p < 0,05$ ) порівняно з групою інтактних тварин ( $9,47 \pm 2,59$  та  $6,14 \pm 0,80$  пмоль/л відповідно). Вміст вТ<sub>3</sub> у сироватці крові тварин цієї групи практично не відрізняється від аналогічного показника інтактних тварин. Відношення вТ<sub>3</sub>/вТ<sub>4</sub>, що є показником конверсії тироксину в трийодтиронін, у 2-й дослідній групі був меншим, ніж у контрольній групі, але різниця була не вірогідною ( $1,54 \pm 0,34$  та  $2,53 \pm 0,41$  відповідно,  $p = 0,089$ ). Також спостерігається істотне збільшення вмісту ТТГ у сироватці крові тварин 2-ї групи порівняно з групою інтактних тварин, але завдяки значному розкиду значень у групах різниця між ними не була вірогідною.

Вміст вТ<sub>4</sub> в сироватці крові у тварин 3-ї групи мало відрізнявся від контрольного значення, натомість був значно меншим, ніж у тварин 2-ї дослідної групи ( $4,35 \pm 0,20$  та  $9,47 \pm 2,59$  пмоль/л відповідно,  $p < 0,02$ ). Мінімальне значення цього показника спостерігається в групі тварин, які отримували мелатонін о 14.00 ( $3,94 \pm 0,31$  пмоль/л). Вміст вТ<sub>3</sub> у сироватці крові тварин 3-ї групи є майже однаковим з аналогічними показниками тварин контрольної та 2-ї дослідної груп. У 3-ій експериментальній групі визначається зростання конверсії тиреоїдних гормонів (вТ<sub>3</sub>/вТ<sub>4</sub>) на 75% порівняно із 2-ю групою ( $2,71 \pm 0,32$  та  $1,54 \pm 0,34$  відповідно,  $p < 0,05$ ). Максимальне зростання вТ<sub>3</sub>/вТ<sub>4</sub> виявляється у тварин підгрупи М14 ( $3,13 \pm 0,59$ ). Вміст ТТГ у тварин, яким перед стресуванням вводили мелатонін, практично не відрізняється від контрольного значення.

Результати гормональних досліджень дозволяють стверджувати про значне підвищення секреторної активності ЩЗ у щурів 2-ї групи. Про це свідчить зростання вмісту вТ<sub>4</sub> в сироватці крові щурів в умовах гострого іммобілізаційного стресу, що відбувається завдяки підвищенню тиреотропної функції гіпофіза. Отримані результати узгоджуються з даними інших дослідників [5, 14]. Гіперфункцію ЩЗ в умовах стресу, на нашу думку, слід розглядати як адаптивну ("фізіологічну") реакцію у відповідь на підвищену енергетичну та кисневу потребу організму при стресі. Адже саме тиреоїдні гормони прискорюють метаболізм, сприяють утворенню енергії шляхом стимуляції гліколізу та глюконеогенезу, збільшують засвоєння кисню тканинами [2]. Однак при тривалому впливі стресогенного фактора відбувається виснаження компенсаторних резервів організму, що призводить до зриву адаптації та виникнення патологічних змін [8]. Це підтверджують дані літератури [11, 12], які свідчать про формування гіпофункції ЩЗ в умовах хронічного стресу.

У тварин, які перед стресуванням отримували мелатонін, спостерігається дещо інша реакція ЩЗ. На відміну від щурів 2-ї групи в них визначається зменшення вмісту вТ<sub>4</sub> порівняно з контрольною групою. Натомість вміст вТ<sub>3</sub> у сироватці крові не відрізняється від аналогічного показника в 2-й групі. Зазначені зміни можна пояснити підвищеним рівнем конверсії тироксину в трийодтиронін дейодиназним шляхом. Про це свідчить зростання відношення вТ<sub>3</sub>/вТ<sub>4</sub> у тварин, які отримували мелатонін. Як відомо, трийодтиронін є набагато активнішим за тироксин [9], і деякі науковці схильні розглядати Т<sub>4</sub> як прогормон біологічного активного гормону Т<sub>3</sub> [3]. Зважаючи на цей факт можна припустити, що навіть при зниженні вмісту вТ<sub>4</sub> зберігається адаптивна реакція ЩЗ при стресі завдяки біологічним ефектам трийодтироніну. Також можна припустити, що мелатонін модифікує тиреоїдний гомеостаз при стресі шляхом "економізації" біосинтезу тиреоїдних гормонів (підвищення дейодиназної конверсії тироксину в трийодтиронін). Це, у свою чергу, на нашу думку, сприяє більш тривалій адаптації організму і ЩЗ зокрема при тривалому впливі стресогенних факторів. Вказані вище ефекти мелатоніну розглядаються нами як протекторні в механізмах корекції відхилень морфофункціонального стану щитоподібної залози при стресі. Необхідно відмітити, що найбільш виражений захисний вплив мелатоніну спостерігається при його введенні о 14.00, тобто в денний час. Це, ймовірно, пов'я-

зано з більшою чутливістю рецепторів мелатоніну вдень внаслідок його мінімальної концентрації у світлу фазу доби, і, навпаки, їхньою десенситизацією вночі внаслідок максимальної концентрації мелатоніну в темну фазу доби [1,4].

Зазначені протекторні властивості мелатоніну підтверджуються результатами визначення вмісту кортизолу в сироватці крові щурів в умовах стресу (табл. 3).

Таблиця 3

**Вміст кортизолу в сироватці крові інтактних і дослідних щурів (M±SEM)**

Група	n	Кортизол, нмоль/л
1-ша група	7	98,14±38,37
2-га група	7	283,1±29,55 *
3-тя група	14	205,2±22,33 *
M 14	7	173,3±31,18
M 20	7	237,1±29,13 *

Примітка. \* - різниця вірогідна відносно контрольної групи

У тварин 2-ї групи (табл. 3) спостерігається підвищення вмісту кортизолу в сироватці крові у 2,88 раза порівняно з інтактними тваринами (283±29,5 та 98,1±29,5 нмоль/л відповідно,  $p < 0,01$ ). У тварин 3-ї групи визначається менш виражене зростання цього показника, але різниця в порівнянні з контрольною групою є вірогідною (205±22,3 та 98,1±29,5 нмоль/л відповідно,  $p < 0,01$ ). Поряд із цим, не виявлено вірогідної різниці між показниками вмісту кортизолу в сироватці крові тварин контрольної групи та підгрупи M14. Це дозволяє стверджувати, що введення мелатоніну в денний час забезпечує його максимальний захисний вплив на організм при стресі.

**Висновки.**

1. В умовах іммобілізаційного стресу спостерігаються істотні зміни тиреоїдного гомеостазу, що проявляється підвищенням функціональної активності щитоподібної залози та тиреотропної функції гіпофіза.

2. Введення мелатоніну щурам перед стресом модифікує функціонування щитоподібної залози шляхом стимуляції конверсії тиреоїдних гормонів, що сприяє менш вираженій мобілізації щитоподібної залози у відповідь на стрес. Такий ефект мелатоніну можна розглядати як стреспротективний.

3. Найбільш виражений захисний вплив мелатоніну при стресі спостерігається при його введенні в денні часи.

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

**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. *Пішак В.П.* Щитоподібне тіло і біохімічні основи адаптації. – Чернівці: Медакадемія, 2003. – 152 с. 5. *Таракулов Я.Х., Буриханов Р.Б., Патхитдинов И.П. и др.* Влияние иммобилизационного стресса на уровень секреции тиреоидных гормонов // Пробл. эндокринологии. – 1993. – Т. 6, №2. – С. 47-51. 6. *Хмельницкий О.К.* Цитологическая и гистологическая диагностика заболеваний щитовидной железы. Рук-во. – СПб.: СОГИС, 2002. – 288 с. 7. *Ходоровська А.А.* Морфологія щитоподібної залози в умовах стресу на фоні введення мелатоніну // Клін. та експерим. патол. – 2004. – Т. III, № 1. – С. 85-87. 8. *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. 9. *Эндокринология*. Пер. с англ. / Под ред. Н. Лавина. – М.: Практика, 1999. – 1128 с. 10. *Юматов С.А.* Нейромедиаторные интеграция эмоционального возбуждения и механизмы устойчивости к стрессу // Вестн. РАМН. – 1995. – №11. – С. 9-16. 11. *Cremaschi G.A., Gorelik G., Klecha A.J. et al.* Chronic stress influences the immune system through the thyroid axis // Life Sci. – 2000. – Vol. 67(26). – P. 3171-3179. 12. *Kioutkia-Fougia N., Antoniou K., Bekris S. et al.* The effects of stress exposure on the hypothalamic-pituitary-adrenal axis, thymus, thyroid hormones and glucose levels // Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry. – 2002. – Vol. 26(5). – P. 823-830. 13. *Kundurovic Z., Alicelebic S.* Morphometric aspects of ultrastructural details of rat thyrocytes which have been irradiated and pretreated with melatonin // Med. Arch. – 1997. – Vol. 51(3-4). – P. 77-79. 14. *Solberg I.C., Olson S.L., Turek F.W. et al.* Altered hormone levels and circadian rhythm of activity in the WKY rat, a putative animal model of depression // Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol. – 2001. – Vol. 281(3). – P. 786-794. 15. *Tsigos C., Chrousos G.P.* Hypothalamic-pituitary-adrenal axis, neuroendocrine factors and stress // J. Psychosom. Res. – 2002. – Vol. 53(4) – P. 865-871.

## THYROID HOMEOSTASIS UNDER STRESS CONDITIONS AGAINST A BACKGROUND OF MELATONIN ADMINISTRATION

*V.P.Pishak, A.A.Khodorovska*

**Abstract.** The specific characteristics of thyroid homeostasis have been studied under condition of immobilization stress. The protective role of melatonin in the mechanisms of correcting changes of the morphofunctional condition of the thyroid gland under stress has been proved.

**Key words:** thyroid homeostasis, thyroid gland, free thyroid hormones, thyroid stimulating hormone, stress, melatonin.

Bukovinian State Medical Academy (Chernivtsi)

Buk. Med. Herald. – 2004. – Vol.8, №4.- P.104-109

*Надійшла до редакції 24.09.2004 року*

---