

Морфофункціональний стан щитоподібної залози після введення мелатоніну

Р.В. Янко

Інститут фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України, Київ; e-mail: biolag@ukr.net

Досліджували морфофункціональний стан щитоподібної залози (ЩЗ) молодих щурів лінії Вістар після введення екзогенного мелатоніну у весняний і осінній періоди. Мелатонін тварини отримували щодня протягом 28 діб у дозі 5 мг/кг. У дослідних груп виявлено збільшення середньої площі поперечного перерізу фолікулів на 31 % і колоїду на 30 % (навесні), внутрішнього діаметра фолікулів, зниження площі та висоти фолікулярного епітелію на 12 % (восени). Також у тварин відмічена незначна наявність у колоїді резорбційних вакуолей, зниження фолікулярно-колоїдного індексу і зростання індексу накопичення колоїду, зменшення кількості інтерфолікулярних острівців. Введення мелатоніну у весняний період знизило кількість елементів сполучної тканини, тоді як при осінньому впливі, навпаки – істотно збільшилася ширина міжчасткової (на 12 %), міжчасточкової (на 17 %) і міжфолікулярної (на 31 %) сполучної тканини в ЩЗ. Мелатонін у весняний період призвів до більш істотних змін в структурі залози порівняно з осіннім періодом. За більшістю досліджуваних показників як у весняний, так і в осінній періоди він знижує функціональну активність і фізіологічну регенерацію ЩЗ.

Ключові слова: мелатонін; щитоподібна залоза.

ВСТУП

В останні роки взаємозв'язку епіфіза та щитоподібної залози (ЩЗ) приділяють велику увагу, проте багато питань відносно цієї проблеми залишаються до кінця не вирішеними [1, 2]. Літературні дані, присвячені впливу мелатоніну на стан ЩЗ, досить неоднозначні і часто суперечливі. У більшості праць показано, що підшкірне, внутрішньоочеревинне, внутрішньовенне і навіть внутрішньошлуночкове його введення пригнічує функціональну активність залози, знижує концентрацію тиреоїдних гормонів у сироватці крові [3–5]. Інші автори надають мелатоніну роль стимулювального фактора на ЩЗ [6]. Так, Геворкян з співавт. [7] виявив, що ін'єкції мелатоніну (протягом 10 діб) в дозі 0,05 та 0,5 мг/кг підвищують секрецію тиреоїдних гормонів у старих щурів. При цьому збільшується відносна кількість тироцитів з диплоїдними ядрами, що можна

розцінювати як «омолодження» ЩЗ. Інша група вчених спостерігала гіпофункцію ЩЗ після перебування кролів в умовах цілодобового освітлення, яке пригнічує синтез мелатоніну. А після введення екзогенного мелатоніну чи поміщення тварин на фізіологічний світловий цикл, функція залози повертається до норми [8]. Dzerzhynsky та співавт. [9] дослідили, що мелатонін покращує синтетичну активність ЩЗ, опосередковуючи свій вплив через імунну систему. А група вчених на чолі з Siegrist [10] не виявила змін у концентрації тироксину в крові після 6-місячного його введення. Така неоднозначність може бути пов'язана з використанням в експериментах тварин різного виду та віку [11]. Велике значення має доза та тривалість введення мелатоніну [5, 9]. Цей гормон має добові та сезонні коливання ритмів секреції [12, 13]. Тому проведення досліджень у різну пору року та час доби також може призводити до отримання протилежних результатів.

Мета нашої роботи – дослідити та порівняти зміни морфофункціональних показників активності ЩЗ молодих щурів після введення мелатоніну в весняний та осінній періоди.

МЕТОДИКА

Дослідження проведено на 48 щурах-самцях лінії Вістар віком 3 міс у весняний (квітень) та осінній (листопад) періоди. Тваринам дослідних груп щодня перорально вводили екзогенний мелатонін о 10.00 “Unipharm Inc., США” в дозі 5 мг/кг. Щури всіх груп перебували в уніфікованих умовах зі стандартним раціоном харчування та природним циклом світло/темрява. Тривалість експерименту становила 28 діб. Щури були розділені на чотири групи: I і III групи – інтактні тварини у весняний та осінній періоди відповідно, II – щури, які отримували екзогенний мелатонін у весняний період та IV – тварини, які зазнавали введення мелатоніну в осінній період. Роботу із щурами проводили з дотриманням міжнародних принципів Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших цілей.

Функціональну активність, фізіологічну регенерацію та стан сполучної тканини (СТ) у паренхімі ЩЗ оцінювали за допомогою гістологічних, морфометричних і морфологічних методів дослідження. Із ЩЗ виготовляли гістологічні препарати за стандартною методикою: фіксували в рідині Буена, зневоднювали у спиртах зростаючої концентрації (від 70 до 96°) та діоксані. Отримані зразки заливали в парафін. Парафінові зрізи, завтовшки 5 – 6 мкм, виготовляли на санному мікротомі, фарбували гематоксиліном Бемера та еозином. Для візуалізації елементів СТ застосовували методи дво- та триколіорового забарвлення за Ван-Гізоном та Массоном [14]. З використанням цифрової камери мікропрепарати фотографували на мікроскопі «Nicon» (Японія). Морфометрію здійснювали за допомогою комп'ютерної програми «Image J».

На гістологічних зрізах ЩЗ вимірювали:

площу поперечного перерізу фолікула, колоїду та фолікулярного епітелію, зовнішній та внутрішній діаметр фолікулів, висоту фолікулярного епітелію, ширину міжчасткової, міжчасточкової та міжфолікулярної сполучної тканини. Підраховували кількість тироцитів у фолікулі, визначали фолікулярно-колоїдний індекс та індекс накопичення колоїду [15, 16].

Статистичну обробку здійснювали методами варіаційної статистики за допомогою комп'ютерної програми Statistica 5.0. Вірогідність різниці між контрольними і дослідними групами оцінювали за критерієм t Стюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Виявлено, що щури після введення мелатоніну мають не змінену структуру ЩЗ зі збереженням її основних структурних елементів. Паренхіма залози розділяється на центральну і периферичну зони. ЩЗ інтактних тварин містить фолікули овальної та видовженої форми різного розміру (рис. 1). Показано, що розмір фолікулів дещо залежить від пори року. Так, якщо фолікули весною в середньому мають площу 2466 мкм², то восени вона становить 2899 мкм² (таблиця).

Виявлено розбіжності в отриманих морфометричних показниках стану ЩЗ у дослідних групах щурів. Так, у тварин, після дії мелатоніну у весняний період, спостерігали вірогідне зростання площі поперечного перерізу фолікула та його колоїду на 31 і 30 % відповідно порівняно з контролем. У щурів, яким вводили мелатонін в осінній період, площа фолікулів та колоїду залишалася на рівні контрольних значень (таблиця). Зростання розмірів фолікулів може вказувати на зниження активності ЩЗ. У малоактивному стані до її складу входять фолікули переважно великого розміру внаслідок депонування гормонів у середині фолікула, збільшення об'єму колоїду [15].

Фолікулярний епітелій утворений тироцитами, які складають основну масу паренхіми ЩЗ. Форма тироцитів залежить від функціонального стану залози. При нор-

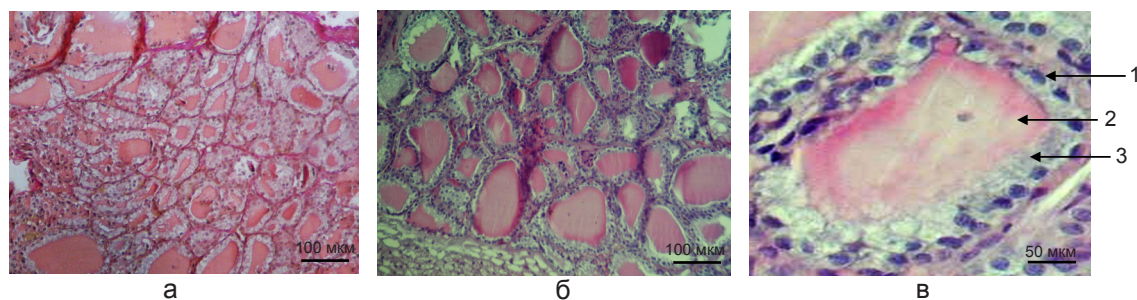


Рис. 1. Зріз лівої частки щитоподібної залози інтактної тварини (а) та щура, який зазнавав введення мелатоніну у весняний період (б). Забарвлення за методом Ван-Гізона. Збільшення у 200 разів; в – мікрофотографія фолікула: 1 – тироцит; 2 – колоїд; 3 – резорбційні вакуолі. Забарвлення за методом Ван-Гізона. Збільшення у 400 разів

мофункції вони мають кубічну форму, при гіпофункції стають плоскими, а при гіперфункції – набувають призматичної форми [16]. Показано, що тироцити контрольних груп переважно кубічної, рідше плоскої (у великих фолікулах через розтягнення стінки) чи призматичної форми (переважно у дрібних фолікулах). Висота тироцитів у тварин інтактної групи весною і восени в середньому становить 9,8 і 9 мкм відповідно.

У щурів, після введення мелатоніну, тироцити мали кубічну, рідше плоску форму з середньою висотою 10,5 мкм (весною) та 8 мкм (восени). Площа фолікулярного епітелію у тварин дослідної групи весною зросла на 32 % порівняно з контролем (пов'язано з пропорційним збільшенням площі самих фолікулів). Щури, які отримували мелатонін в осінній період, мали вірогідне зниження площі фолікулярного епітелію на 12 % порівняно з контролем. В ЩЗ тварин дослідних груп

відмічено зростання внутрішнього діаметра фолікулів на 24 % ($P<0,05$) – після введення мелатоніну у весняний період та на 3 % – після осіннього експерименту (таблиця). Збільшення внутрішнього діаметра фолікулів, зниження висоти тироцитів і площі фолікулярного епітелію вказує на пригнічення активності залози.

У просвіті фолікулів накопичується колоїд, що являє собою гомогенну в'язку рідину, яка містить переважно тиреоглобулін. Залежно від активності ЩЗ, колоїд буває щільним, помірно щільним чи пінистим. Так, при нормофункції колоїд помірно консистентний, в ньому візуалізуються ділянки резорбції, що свідчить про секрецію гормонів. При гіпофункції він стає щільним, без явно виражених резорбційних зон, що говорить про депонування великої кількості гормонів. При гіперфункції його кількість різко зменшується, нерідко він стає пінистим, з'являється багато резорбційних вакуолей

Морфометричні показники щитоподібної залози після введення екзогенного мелатоніну ($M \pm m$, $n=12$)

Показники	Весна		Осінь	
	Контроль	Дослід	Контроль	Дослід
Площа, мкм ²				
фолікула	2466±189	3236±143*	2899±224	2778±207
колоїду	1122±135	1462±87*	1424±195	1485±126
фолікулярного епітелію	1344±93	1774±107*	1475±37	1293±36*
Діаметр фолікула, мкм				
зовнішній	57,4±2,56	68,1±2,62*	57±2,27	56±2,35
внутрішній	37,9±2,54	47,1±2,51*	39±2,32	40,1±2,41
Висота тироцитів, мкм	9,8±0,28	10,5±0,67	9±0,16	8±0,14*

* $P<0,05$ порівняно з контролем.

[15]. Показано, що в інтактних тварин колоїд у фолікулах має рівномірне рожеве забарвлення, помірної консистенції з резорбційними вакуолями. Колоїд фолікулів дослідних груп тварин помірної щільності, іноді щільний з поодинокими резорбційними вакуолями. Відмічено збільшення його площі на 30 % ($P<0,05$) – після введення мелатоніну у весняний період та на 4 % – при осінньому експерименті порівняно з контролем. Це вказує на депонування гормонів у середині фолікула, а не вивільнення їх у кровоносне русло. В середньому один фолікул інтактних тварин має 20 тироцитів. Після введення мелатоніну у весняний період спостерігали їх зростання на 13 %.

Фолікулярно-колоїдний індекс (ФКІ) чи індекс активності ЩЗ – відношення площі фолікулярного епітелію до площі колоїду. ФКІ у інтактних тварин становив 1,2 весною та 1,4 восени. У щурів, яких піддавали впливу мелатоніну у весняний період, він залишався на рівні контролю, а в осінній період – вірогідно зменшився на 16 % (рис. 2). Як правило, функціональна активність ЩЗ прямо пропорційна відносній площі фолікулярного епітелію. ФКІ зменшується при зниженні активності ЩЗ та посилюється при активації органа.

Індекс накопичення колоїду (ІНК) – відношення середнього внутрішнього діаметра фолікула до подвійної висоти тиреоїдного

епітелію. ІНК у інтактних груп тварин у весняний та осінній періоди становив 1,93 і 2,24 відповідно. Після впливу мелатоніну він зріс на 16 % ($P<0,05$) весною і 12 % восени порівняно з контролем (рис. 2), що свідчить про зниження синтетичної активності ЩЗ.

Тироцити вистилають не тільки стінку фолікула, але і можуть розмішуватися в його середині (інтрафолікулярний епітелій) чи локалізуватися за межами фолікулів (інтерфолікулярний епітелій чи інтерфолікулярні острівці). Вважають, що інтерфолікулярний епітелій містить малодиференційовані (камбіальні) клітини і є джерелом формування нових фолікулів (фолікулогенез) [16]. У щурів після введення мелатоніну як у весняний, так і в осінній періоди кількість інтерфолікулярних острівців у полі зору мікроскопа знижується, що є ознакою пригнічення регенерації ЩЗ.

Виявлено певні відмінності в кількості елементів СТ у різну пору року. Так, у щурів, які отримували препарат у весняний період, спостерігали зменшення кількості елементів СТ у залозі. Однак, якщо ширина міжчасткової СТ у дослідних тварин вірогідно знизилась на 35 %, то ширина міжчасточкової та міжфолікулярної – мала лише тенденцію до зменшення порівняно з контролем. В осінній період, навпаки, – у тварин вірогідно збільшувалася ширина міжчасткової, міжчасточ-

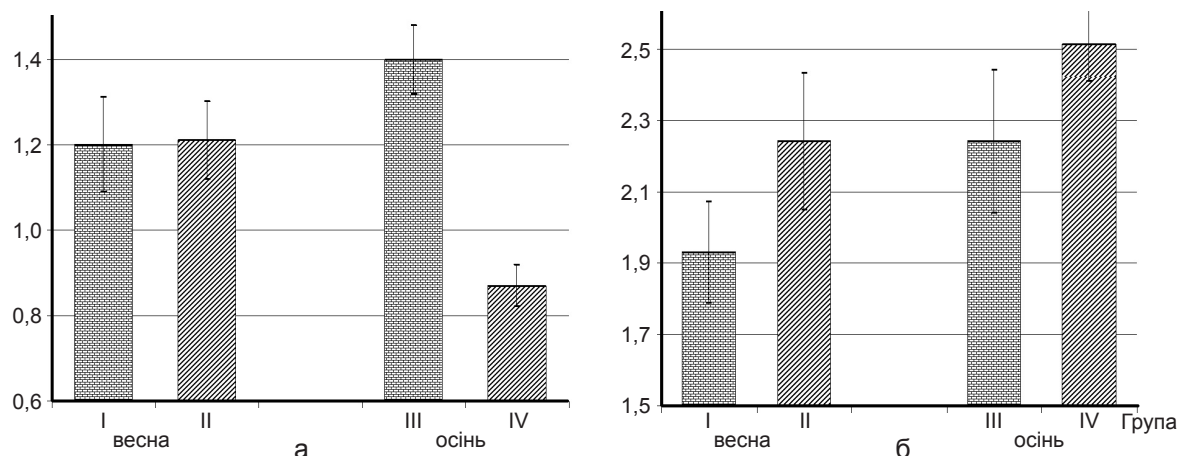


Рис. 2. Фолікулярно-колоїдний індекс (а) та індекс накопичення колоїду (б) в щитоподібній залозі після введення мелатоніну щурам у весняний та осінній періоди. * $P<0,05$ порівняно з контролем

кової, міжфолікулярної СТ в ЩЗ на 12, 17 і 31 % відповідно порівняно з контролем (рис. 3). Тобто отримані результати можуть свідчи-

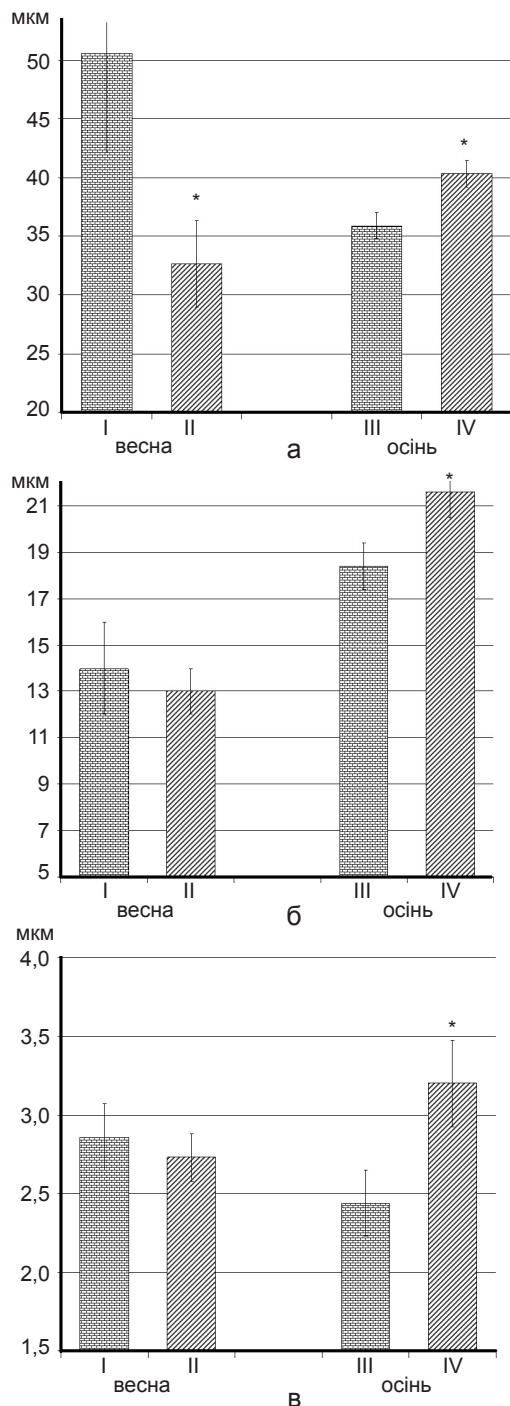


Рис. 3. Ширина міжчасткової (а), міжчасточкової (б) та міжфолікулярної (в) сполучної тканини в щитоподібній залозі щурів після впливу мелатоніну у весняний та осінній періоди. * $P < 0,05$ порівняно з контролем

ти, що мелатонін у весняний період знижує кількість елементів СТ, тоді як восени, навпаки, – призводить до розростання СТ у ЩЗ.

Таким чином, ЩЗ інтактних щурів лінії Вістар у весняний період має більш активний функціональний стан, ніж восени. У тварин, які зазнавали курсового введення мелатоніну у весняний та осінній періоди, виявлено збільшення середньої площі поперечного перерізу фолікулів і площі колоїду (весною), зменшення площі фолікулярного епітелію (восени), зростання внутрішнього діаметра фолікулів і зниження висоти тиреоїдного епітелію (восени). Також у щурів дослідних груп відмічена незначна наявність у колоїді резорбційних вакуолей, зниження ФКІ і підвищення ІНК, зменшення кількості інтерфолікулярних острівців, елементів СТ у весняний період і зростання їх числа восени. Мелатонін у весняний період призводить до більш істотних змін у структурі ЩЗ, ніж восени. Отже, тривале введення екзогенного мелатоніну як у весняний, так і в осінній періоди знижує функціональну активність і фізіологічну регенерацію ЩЗ, але різною мірою.

Р.В. Янко

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ПОСЛЕ ВВЕДЕНИЯ МЕЛАТОНИНА

Исследовали морфофункциональные показатели состояния щитовидной железы (ЩЖ) молодых крыс линии Вистар после введения экзогенного мелатонина в весенний и осенний периоды. Мелатонин животные получали ежедневно на протяжении 28 сут в дозе 5 мг/кг. У крыс опытных групп выявлено увеличение средней площади поперечного сечения фолликулов на 31 % и коллоида на 30 % (весной), внутреннего диаметра фолликулов, снижение площади и высоты фолликулярного эпителия на 12 % (осенью). Также отмечено незначительное наличие в коллоиде резорбционных вакуолей, снижение фолликулярно-коллоидного индекса и возрастание индекса накопления коллоида, уменьшение числа интерфолликулярных островков. Введение мелатонина в весенний период снизило количество элементов соединительной ткани, тогда как при осеннем влиянии, наоборот – существенно увеличилась ширина междольевой (на 12 %), междольковой (на 17 %)

и межфолликулярной (на 31 %) соединительной ткани в ЩЖ. Введение мелатонина в весенний период привело к более существенным изменениям в структуре железы, по сравнению с осенним экспериментом. Таким образом, за большинством исследуемых показателей как в весенний, так и в осенний периоды он снижает функциональную активность и физиологическую регенерацию ЩЖ.

Ключевые слова: мелатонин; щитовидная железа.

R.V. Yanko

MORPHOFUNCTIONAL STATE OF THE THYROID GLAND AFTER EXPOSURE TO MELATONIN

Morphofunctional state of the thyroid gland (TG) of young rats after exposure of exogenous melatonin in the spring and autumn periods was investigated. Exogenous melatonin (Unipharm Inc., USA) was administered to experimental group of animals daily at a dose 5 mg/kg. The duration of the experiment was 28 days. It was shown an increase of the cross-section area of follicles by 31 % and colloid by 30 % (in spring), reduction of the area of follicle epithelium by 12 % (in autumn), an increase in the follicle internal diameter and a decline in the thyroid epithelium height by 12 % (in autumn) in TG of experimental groups rats. Also it was shown a decline of follicle-colloid index and growth of colloid accumulation index, reduction amount of interfollicular islets. The introduction of melatonin in the spring period brought down the amount of connecting tissue elements. Melatonin introduction in the autumn period reduced the thickness of connective tissue trabecules in TG. The introduction of melatonin in the spring period resulted in more substantial changes in the structure of TG, as compared to an autumn experiment. Thus, melatonin administered both in the spring and in the autumn periods reduces the functional activity and physiological regeneration of TG.

Key words: melatonin; thyroid gland.

O.O. Bogomoletz Institute of Physiology, National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv

REFERENCES

1. Rom-Bugoslavskaya E, Scherbakova V, Bondarenko L. Direct and reverse bonds in the system epiphysis-hyroid gland. Melatonin: General biological and oncoradiological aspects: Proceedings of International Symposium. Obninsk. 1994; 42–3.
2. Lewinski A, Karbownik M. REVIEW. Melatonin and the thyroid gland. *Neuro Endocrinol Lett.* 2002; 23 (1): 73–8.
3. Champney T. Reductions in hamster serum thyroxine levels by melatonin are not altered by changes in serum testosterone. *Gen Comp Endocrinol.* 2001; 123 (2): 121–26.
4. John T, Viswanatham M, George J. Influence of chronic melatonin implantation on circulating levels of catecholamines, growth hormone, thyroid hormones, glucose and free fatty acids in the pigeon. *Gen Comp Endocrinol.* 1990; 79 (2): 226 – 232.
5. Baltaci A, Mogulkoc R, Kul A, Bediz C, Ugur A. Opposite effects of zinc and melatonin on thyroid hormones in rats. *Toxicology.* 2004; 195 (1): 69–75.
6. Sakamoto S, Nakamura K, Inoue K, Sakai T. Melatonin stimulates thyroid-stimulating hormone accumulation in the thyrotropes of the rat pars tuberalis. *Histochem Cell Biol.* 2000; 114 (3): 213–18.
7. Gevorkyan A, Gubina-Vakulik G, Bondarenko L. The morphofunctional changes in the thyroid of old rats after a course of melatonin application with 24-hourly dependence. *Probl Endocr Pathol.* 2009; 4: 103–11.
8. Bondarenko L, Sotnik N, Chagovets E, Sergienko L, Cherevko A. Intensity of in vitro incorporation of 3H-melatonin in the thyroid gland of rabbits with pineal gland hypofunction. *Bull Exp Biol Med.* 2011; 150 (6): 753–55.
9. Dzerzhynsky M, Gorelikova O, Pustovalov A. The interaction of the thyroid gland, pineal gland and immune system in chicken. *Reprod Biol.* 2006; 6 (2): 79–85.
10. Siegrist C, Benedetti C. Lack of changes in serum prolactin, FSH, TSH, and estradiol after melatonin treatment in doses that improve sleep and reduce benzodiazepine consumption in sleep-disturbed, middle-aged, and elderly patients. *J Pineal Res.* 2001; 1: 34–42.
11. Varenjuk I, Nuzhuna N, Yanko R, Dzerzhynsky M. Morphological characteristics of the hypothalamic-thyroid system of birds after a single dose of melatonin at different times of day when blocked dopamine D2 receptors. *Visnuk KNU name of Taras Shevchenko.* 2012; 61: 4–6.
12. Arendt J. Importance and relevance of melatonin to human biological rhythms. *J Neuroendocrin.* 2003; 15 (4): 427–31.
13. Pevet P. Melatonin and biological rhythms. *Therapie.* 1998; 30 (1): 109–124.
14. Volkova O, Eleskiy U. Bases of histology with a histological technique. Moscow: Medicine. 1982: 304 p.
15. Zabrodin V. Morphology of thyroid and methods of her study: methodical recommendations. Smolensk: SGMA. 2005: 37 p.
16. Nikishin D. Morphology and methods of thyroid research: methodical recommendations. Penza: Inf Publ Center PGU. 2008: 64 p.

*Матеріал надійшов
до редакції 03.11.2014*