

УДК 612.018:316.441

Морфологическая структура щитовидной железы молодых крыс, получавших мелатонин

Р.В. Янко

Институт физиологии им. А.А. Богомольца

Резюме. Исследовали влияние фармакологической дозы (5 мг/кг массы тела) экзогенного мелатонина на морфологические изменения и морфометрические показатели функциональной активности щитовидной железы молодых крыс. Выявлены признаки подавления функциональной активности железы после введения мелатонина, а именно: уменьшалась площадь поперечного сечения фолликулярного эпителия, снижалась высота тироцитов, наблюдали наличие плотного коллоида без явно выраженных резорбционных вакуолей, уменьшалось количество интерфолликулярного эпителия, снижался фолликулярно-коллоидный индекс и возрастал индекс накопления коллоида, увеличилось количество элементов соединительной ткани в щитовидной железе. Таким образом, 28-ми суточное воздействие экзогенного мелатонина снижает регенеративную и функциональную активность щитовидной железы 3-месячных крыс.

Ключевые слова: мелатонин, щитовидная железа.

Влияние мелатонина на щитовидную железу (ЩЖ) – одна из малоизученных проблем эндокринологии и в настоящее время исследуется во многих странах мира. Мелатонин, действуя на ЩЖ, осуществляет влияние практически на все цепи обмена тиреоидных гормонов: поглощение йода, его органификацию, синтез и секрецию тироксина, метаболические превращения последнего и др. [1].

Среди ученых нет единой точки зрения относительно влияния мелатонина на морфологическую структуру, регенеративную и функциональную активность ЩЖ. Одни исследователи отмечают угнетающий эффект мелатонина на ЩЖ [2,3],

другие – стимулирующее влияние [4,5], а третьи – отрицают какое-либо участие мелатонина в функционировании железы [6]. Расхождение полученных результатов может быть связано с использованием в экспериментах животных разного вида и возраста, дозы введения мелатонина, проведением исследования в разное время суток и года, продолжительностью эксперимента и т.д.

Цель работы – исследовать изменения морфологической структуры щитовидной железы молодых крыс в результате воздействия фармакологической дозы экзогенного мелатонина.

Материалы и методы

Эксперимент проведен в осенне-зимний период (ноябрь-декабрь) на 24 крысах-самцах линии Wistar в возрасте 3 месяца. Животные были рас-

* адреса для листування (Correspondence): Інститут фізіології ім. О.О. Богомольця, м. Київ, вул. Богомольця, 4, м. Київ, 01024, Україна.
e-mail: biolag@ukr.net

пределены на 2 группы: I группа – контроль, II – крысы, которые ежедневно (в 10 часов утра) перорально получали экзогенный мелатонин (Unipharm Inc., США) в фармакологической дозе 5 мг/кг массы тела. Продолжительность эксперимента составляла 28 суток. С целью избежания стресса при принудительном введении животному мелатонина, препарат вводили в пищу (творожная масса), с визуальным контролем полного съедания порций. Крысы контрольной (интактной) группы получали творог без мелатонина. Животные обеих групп находились на стандартном рационе питания. Работу проводили с соблюдением международных принципов Европейской конвенции о защите позвоночных животных.

По окончании эксперимента крыс декапировали под рауш-наркозом. Извлекали ЩЖ и изготавливали гистологические препараты по стандартной методике: фиксацию проводили в жидкости Буэна, обезживали в спиртах возрастающей концентрации, заливали в парафин. Полученные парафиновые срезы окрашивали обзорными красителями – гематоксилином Бемера и спиртовым раствором эозина, а для визуализации элементов соединительной ткани – по методу Ван-Гизона и Массона [7]. Морфологический анализ проводили при помощи светового микроскопа. Из гистологических срезов ЩЖ были сделаны цифровые микрофотографии, на которых с помощью компьютерной программы «Image J» произведены морфометрические измерения. Морфометрические методы изучения структуры ЩЖ позволяют количественно оценивать характер ее структурной перестройки и степень морфофункциональной активности. На срезах ЩЖ измеряли площадь поперечного сечения фолликулов, коллоида и фолликулярного эпителия, внешний, внутренний и эффективный диаметры фолликулов, высоту тироцитов, подсчитывали количество тироцитов в фолликуле, определяли фолликулярно-коллоидный индекс и индекс накопления коллоида. Оценку состояния стромы ЩЖ производили путем измерения ширины междольковых, междольковых и межфолликулярных прослоек соединительной ткани [8,9].

Морфометрические данные обрабатывали при помощи методов вариационной статистики с помощью программного обеспечения Statistica 6.0 for Windows и программы Microsoft Excel 2010. Достоверность различий между контрольными и экспериментальными группами оценивали по *t*-критерию Стьюдента.

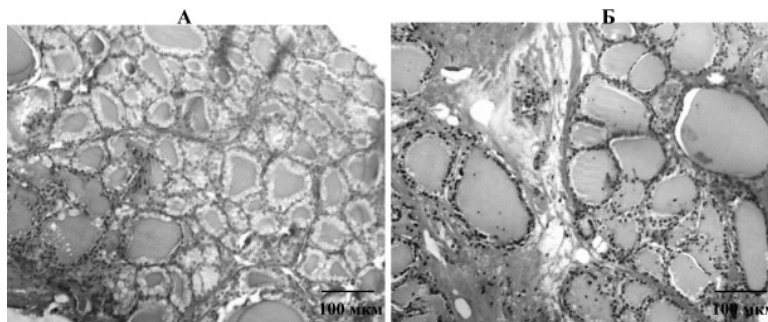


Рисунок 1. Микрофотография щитовидной железы крысы контрольной группы (А) и после влияния экзогенного мелатонина (Б). Окраска по Ван-Гизону. Увеличение 200 раз.

Результаты и их обсуждения

У крыс, получавших экзогенный мелатонин, ЩЖ сохраняет физиологическую структуру. В ЩЖ обеих исследуемых групп фолликулы имеют сферическую и овальную форму и разные размеры. По периферии железы расположены фолликулы больших размеров, а в центре, наоборот, мелкие (рис. 1).

Средняя площадь поперечного сечения фолликула и его коллоида у крыс, находившихся под воздействием мелатонина, не изменилась. Вместе с тем, площадь фолликулярного эпителия у животных, получавших мелатонин, достоверно снизилась на 12% по сравнению с контролем (таблица).

Фолликулярный эпителий образован тироцитами, которые составляют основную массу паренхимы железы. Тироциты образуют стенку фолликула, ограничивая его извне. В ЩЖ интактных животных тироциты имеют преимущественно кубическую форму, с высотой в среднем 9 мкм. Коллоид умеренной плотности, имеет резорбционные вакуоли. После 28-суточного введения экзогенного мелатонина тироциты в ЩЖ приобретают кубическую и плоскую форму, коллоид преимущественно плотный, резорбционные вакуоли единичны. Высота тироцитов в группе подопытных животных была ниже на 11% ($p < 0,05$) по сравнению с контролем (таблица). Количество тироцитов в фолликуле, как в контрольной, так и подопытной группе, составляло в среднем 20.

Таблица. Морфометрические показатели щитовидной железы крыс, получавших мелатонин ($M \pm m$, $n=12$)

Показатели	Контроль	Мелатонин
Площадь фолликула, мкм ²	2899±224	2778±207
Площадь коллоида, мкм ²	1424±195	1485±126
Площадь фолликулярного эпителия, мкм ²	1475±37	1293±36*
Внешний диаметр фолликула, мкм	57±2,27	56±2,35
Внутренний диаметр фолликула, мкм	39±2,32	40±2,41
Эффективный диаметр фолликула, мкм	66±2,39	64±2,45
Высота тироцитов, мкм	9±0,16	8±0,14*

* $p < 0,05$ – различия достоверны по сравнению с контролем.

Достоверных различий в размерах внешнего, внутреннего и эффективного диаметра фолликулов между контрольной и подопытной группы не выявлено (таблица).

Фолликулярно-колоидный индекс (ФКИ) и индекс накопления коллоида (ИНК) являются информативными показателями функционального и синтетического состояния паренхимы ЩЖ. ФКИ (индекс активности железы) – соотношение площади поперечного сечения фолликулярного эпителия к площади коллоида [9]. У крыс, получавших мелатонин, выявлено достоверное снижение этого показателя на 16% в сравнении с контролем. ИНК – соотношение среднего внутреннего диаметра фолликула к удвоенной высоте фолликулярного эпителия. У подопытных крыс отмечено увеличение ИНК на 12% по сравнению с контролем (рис. 2). Таким образом, снижение ФКИ и увеличение ИНК свидетельствуют об угнетении синтетической активности паренхимы ЩЖ после воздействия исследуемой дозы мелатонина [9].

Помимо фолликулов, в ЩЖ присутствует интерфолликулярный эпителий – скопления тироцитов без полости, которые в небольшом количестве синтезируют тиреоидные гормоны. Этот эпителий содержит малодифференцированные (камбиальные) клетки и служит источником формирования новых фолликулов. Считают, что физиологическая и репаративная регенерация

паренхимы ЩЖ происходит за счет тироцитов, расположенных в интерфолликулярном эпителии [8]. В нашем исследовании у крыс, получавших экзогенный мелатонин, выявлено уменьшение количества интерфолликулярного эпителия, что может свидетельствовать о снижении регенеративной активности железы.

В состав соединительнотканного остова железы входит капсула и строма. В последней разделяют междолевую, междольковую, межфолликулярную и паравазальную соединительную ткань (СТ) [10]. Междолевая СТ окружает долю железы снаружи. Междольковая СТ занимает значительно меньшую площадь по сравнению с междолевой. В ее состав входят тонкие пучки коллагеновых волокон, которые переплетаются в разных направлениях. Межфолликулярная СТ состоит из ретикулярных и коллагеновых волокон, которые вплетаются в фолликулярные оболочки, связывая тем самым фолликулы между собой. Волокнистые структуры, окружающие сосуды железы (паравазальная СТ), представлены преимущественно эластиновыми и, в меньшей степени, коллагеновыми волокнами. Проведенные нами исследования позволяют утверждать, что после воздействия экзогенного мелатонина количество элементов соединительной ткани в ЩЖ существенно увеличивается (рис. 1). Так, ширина междолевой, междольковой и межфолликулярной СТ у крыс, получавших мелатонин, достоверно возрастает на 12%, 17% и 31% соответственно, в сравнении с контролем (рис. 3).

В литературе имеется много работ, посвященных влиянию мелатонина на функциональную активность ЩЖ. Но, к сожалению, полученные результаты неоднозначны и зачастую противоречивы. В большинстве исследований на основе многочисленных экспериментов с эпифизэктомией, изменениями светового режима, непосредственным введением в организм мелатонина, показано его подавляющее действие на функциональную активность ЩЖ [11]. Так, существуют данные, которые

свидетельствуют об угнетающем влиянии мелатонина на содержание тиротропина, трийодтиронина и тироксина в плазме крови [2,3,12,13]. Некоторые авторы, наоборот, отводят мелатонину роль фактора, стимулирующего ЩЖ [4]. Bondarenko и соавт. сообщили о гипопункции ЩЖ

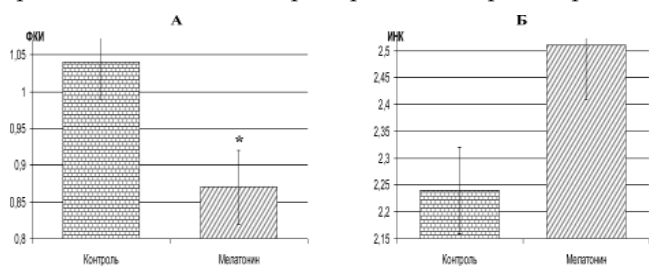


Рисунок 2. Фолликулярно-колоидный индекс (А) и индекс накопления коллоида (Б) щитовидной железы животных, получавших экзогенный мелатонин. Здесь и на рис. 3 * – различия достоверны ($p < 0,05$) по сравнению с контролем.

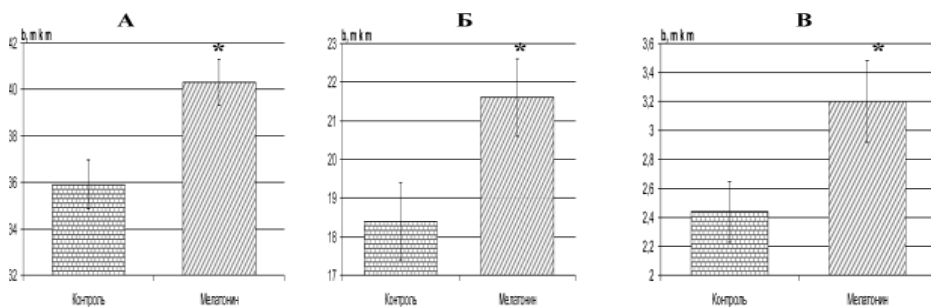


Рисунок 3. Ширина междолевой (А), междольковой (Б) и межфолликулярной (В) соединительной ткани щитовидной железы животных, получавших экзогенный мелатонин.

Оригінальні дослідження

после помещения кроликов на круглосуточное освещение, подавляющее синтез мелатонина. После введения мелатонина или помещения животных на физиологический световой цикл, функция железы возвращалась к норме [14]. В экспериментах, проведенных на цыплятах, показано, что мелатонин улучшает синтетическую активность ЩЖ, опосредуя свое действие через иммунную систему [15]. Другие исследователи отрицают любое участие мелатонина в регуляции работы ЩЖ. Например показано, что введение мелатонина в течение 6 месяцев не вызывает изменений в содержании тироксина у крыс [6].

Установлено, что действие мелатонина на ЩЖ в значительной степени зависит от длины светового дня. Подавляющее действие мелатонина на поглощение ^{131}I , синтез и секрецию йодированных тиронинов, уровень трийодтиронина, тироксина в сыворотке крови, а также на структуру ЩЖ зимой реализуется преимущественно транsgiпофизарно, поскольку одновременно снижается и уровень тиротропина в сыворотке крови. Летом мелатонин оказывает более выраженное влияние на периферический метаболизм тироксина, а снижение уровня трийодтиронина приводит к повышению уровня тиротропина в сыворотке крови [16]. Действует мелатонин на ЩЖ с помощью рецепторов, которые локализируются на плазматической мембране тироцитов. На мембранах тироцитов найдены мелатонинсвязывающие участки высокого и низкого сродства. Под воздействием постоянной темноты их гетерогенность повышается за счет перехода части связывающих мест из «низкоаффинных» в «высокоаффинное» состояние [17].

Большое влияние на концентрацию мелатонина имеет избыток или недостаток тиреоидных гормонов. В условиях избытка тиреоидных гормонов в организме происходит активация, биосинтез и секреция мелатонина, а в условиях недостатка гормонов ЩЖ – резкое падение биосинтеза гормона, что влечет за собой и резкое снижение поступления мелатонина в кровь. Эпифиз и ЩЖ взаимодействуют по принципу отрицательной обратной связи [18].

Garcia-Marin R. и соавт. [19] выявили, что мелатонин может синтезироваться не только в эпифизе, но и в С-клетках ЩЖ, что, возможно, защищает фолликулярные клетки от окислительного напряжения, свойственного железе, и может также иметь паракринные и аутокринные функции.

Заключение

При исследовании морфологической структуры щитовидной железы молодых крыс, после 28-суточного введения экзогенного мелатонина в дозе 5 мг/кг массы тела, выявлены признаки угнетения ее функциональной активности. Об этом свидетельствует уменьшение площади поперечного сечения фолликулярного эпителия, снижение высоты тироцитов и приобретение ими плоской формы, наличие плотного коллоида без явно выраженных резорбционных вакуолей, уменьшения количества интерфолликулярного эпителия, снижение фолликулярно-коллоидного индекса и возрастания индекса накопления коллоида, увеличение количества элементов соединительной ткани в щитовидной железе.

Проведенные нами исследования показали, что экзогенный мелатонин (в дозе 5 мг/кг массы тела) тормозит функциональную активность щитовидной железы, подавляя ее регенеративные и секреторные свойства.

Список использованной литературы

1. Шатило В.Б. Мелатонін та його функція // Журн. практичного лікаря. 1999, № 6, 35-41. (Shatylo V.B. Melatonin and its function // J. Practical doctor. 1999, 6, 35-41).
2. Baltaci A.K., Mogulkoc R., Kul A., Bediz C.S., Ugur A. Opposite effects of zinc and melatonin on thyroid hormones in rats // Toxicology. 2004, 195, 1, 69-75.
3. Prakash P., Laloraya M., Kumar P. Influence of a melatonin implant on the free radical load in avian thyroid and its relation with thyroid hormonogenesis // Neuroendocrinol. Lett. 2000, 129, 653-663.
4. 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, 213-218.
5. Варенюк І., Нужи́на Н., Я́нко Р., Дзержинський М. Морфологічна характеристика гіпоталамо-тиреοїдної системи птахів після однократного введення мелатоніну в різний час доби при блокуванні галоперидолом дофамінових D_2 -рецепторів // Вісник КНУ ім. Тараса Шевченка. 2012, 61, 4-6. (Varenjuk I., Nuzhyna N., Yanko R., Dzerzhinsky M. Morphological characteristics of the hypothalamic-thyroid system of birds after a single dose of melatonin at different times of day when blocked dopamine D_2 receptors // Visnyk of Taras Shevchenko Kiev Natl University. 2012, 61, 4-6.).
6. 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.
7. Волкова О.В., Елецкий Ю.К. Основы гистологии с гистологической техникой. Москва: Медицина, 1982. 304 с. (Volkova O.V., Eletskiy Yu.K. Bases of histology with a histological technique. Moscow: Medicine. 1982. 304 p.).
8. Забродин В.А. Морфология щитовидной железы и методы ее изучения: методические рекомендации. Смоленск: Изд-во СГМА. 2005. 37 с. (Zabrodin V.A. Morphology of thyroid and methods of its study: methodical recommendations. Smolensk: SGMA. 2005. 37 p.).

9. Никишин Д.В. Морфология и методы исследования щитовидной железы: методические рекомендации. Пенза: Инф.- изд. центр ПГУ. 2008. 64 с. (Nikishin D.V. Morphology and methods of thyroid research: methodical recommendations. Penza: Inf. of publ. center PGU. 2008. 64 p.).
10. Алешин В.Б. Тканевое давление и его значение в диагностике заболеваний щитовидной железы (анатомо-клиническое исследование): автореф. дис. ...канд. мед. наук: 14.00.27; Иркутск, 1994. 16 с. (Alyoshin V.B. Tissue pressure and his value are in diagnostics of thyroid diseases (anatomo-clinical research): autoref. Diss. for the obtaining a scientific degree of Candidate of Medical Sciences. Irkutsk, 1994. 16 p.).
11. Lewinski A., Karbownik M. REVIEW. Melatonin and the thyroid gland // *Neuro Endocrinol Lett.* 2002, 23, 1, 73-78.
12. Champney T.H. Reductions in hamster serum thyroxine levels by melatonin are not altered by changes in serum testosterone // *Gen. Comp. Endocrinol.* 2001, 123, N 2, 121-126.
13. John T.M., Viswanatham M., George J.C. 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, N 2, 226-232.
14. Bondarenko L.A., Sotnik N.N., Chagovets E.M., Sergienko L.Y., Cherevko A.N. 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, 753-755.
15. Dzerzhynsky M.E., Gorelikova O.I., Pustovalov A.S. The interaction of the thyroid gland, pineal gland and immune system in chicken // *Reprod. Biol.* 2006, 6, 2, 79-85.
16. Pevet P. Melatonin and biological rhythms // *Therapie.* 1998, 30, 1, 109-124.
17. Morgan P.S. Melatonin receptor S: localisation, molecular pharmacology // *Neurochemistry International.* 1994, 24, 101-146.
18. Dawson D. Integrating the action of melatonin on human physiology // *Annales de Medicine.* 1999, 30, 1, 95-102.
19. Garcia-Marin R., Miguel M., Fernandez-Santos J.M., Carrillo-Vico A., Utrilla J.C., Morillo-Bernal J., Diaz-Parrado E., Rodriguez-Prieto I., Guerrero J.M., Martin-Lacave I. Melatonin-synthesizing enzymes and melatonin receptor in rat thyroid cells // *Histol. Histopathol.* 2012, 27, 11, 1429-38.

(Надійшла до редакції 13.06.2014)

Морфологічна структура щитоподібної залози молодих щурів, що отримували мелатонін

Р.В. Янко

Інститут фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України

Резюме. Досліджували вплив фармакологічної дози (5 мг/кг маси тіла) екзогенного мелатоніну на морфологічні зміни і морфометричні показники функціональної активності щитоподібної залози

у молодих щурів. Виявлено ознаки пригнічення функціональної активності залози після впливу мелатоніну, а саме: зменшилась площа поперечного перерізу фолікулярного епітелію, знизилась висота тироцитів, спостерігали наявність щільного колоїду без явно виражених резорбційних вакуолей, зменшилась кількість інтерфолікулярного епітелію, знизився фолікулярно-колоїдний індекс і зріс індекс накопичення колоїду, збільшилась кількість елементів сполучної тканини в щитоподібній залозі. Таким чином, 28-ми добове введення мелатоніну, у дозі 5 мг/кг маси тіла, знизило регенераторну і функціональну активність щитоподібної залози 3-місячних щурів.

Ключові слова: мелатонін, щитоподібна залоза.

The morphological structure of thyroid gland in young rats obtained melatonin

R.V. Yanko

O.O. Bogomolets Institute of Physiology, Natl Acad. Sci. of Ukraine

Summary. We investigated the influence of pharmacological dose (5 mg/kg of body weigh) of exogenous melatonin on morphological changes and morphometric indexes of thyroid gland functional activity in young rats. It was shown a decrease in thyroid gland functional activity after influence of melatonin, namely: decrease of cross-section area of the follicular epithelium, decrease in thyrocytes heigh, observed presence of a dense colloid without expressed resorption vacuoles, decrease amount of interfollicular epithelium, decrease in a follicle-colloid index and increase in a colloid accumulation index, increase in amount of connective tissue elements in thyroid gland. Thus, 28 days melatonin exposure, in dose 5 mg/kg of body weigh, decreased regenerative and functional thyroid gland activity in 3-month rats.

Keywords: melatonin, thyroid gland.