

Морфофункциональный профиль щитовидной железы самцов крыс Wistar в рамках экспериментальной модели «Гипотиреоз-стресс»

*Г.Ж. Бильжанова, соискатель, И.В. Чекуров, к.б.н.,
Т.Я. Вишневецкая, д.б.н., ФГБОУ ВО Оренбургский ГАУ*

На современном этапе научных исследований приоритетным направлением в области медицины и биологии является изучение механизмов адаптации организма к воздействию экстремальных факторов среды, которое вызывает развитие неспецифических приспособительных изменений, направленных на минимизацию неблагоприятного влияния стрессоров – реакций общего адаптационного синдрома.

Главной эффекторной железой при развитии стресса является надпочечник, кортикальный слой которого секретирует гормон кортизол, отвечающий за адаптогенез [1]. Вспомогательным, но не менее значимым в этом процессе эндокринным органом является щитовидная железа [2, 8].

Совокупность центральных (гипоталамус, гипофиз) и периферических эндокринных желёз, задействованных в развитии стресса, складывается в тесно связанные между собой системы: гипоталамо-гипофизарно-адреналовую и гипоталамо-гипофизарно-тиреоидную [3]. Клеточно-тканевая композиция щитовидной железы в качестве одной из вышеупомянутых подсистем обладает высокой адаптационной пластичностью по отношению к эндо- и экзогенным факторам [4, 9].

Гипофункция щитовидной железы в сочетании со стрессом выражается в дискоординации гипоталамо-гипофизарно-адреналовой системы, что характеризует понижение адаптивной пластичности организма [5, 6].

Выявление закономерностей реактивного морфогенеза тканевых комплексов щитовидной железы в состоянии гипофункции при одновременном воздействии стресса приоритетно, поскольку соответствует запросам современной фундаментальной науки и ветеринарной практики.

Цель работы – изучить закономерности адаптивного морфогенеза щитовидной железы и её функционального паттерна в условиях экспериментальной модели «Гипотериоз-стресс».

Для реализации поставленной цели были определены задачи:

- изучить микроморфологию тиреоидной паренхимы щитовидной железы крыс исследуемых групп;

- определить сывороточные концентрации гормонов: тиреоидных (тироксин, трийодтиронин), гипофизарного (тиреотропин) и кортизола;

- оценить степень взаимосвязи гормонального фона с динамикой клеточно-тканевого ансамбля щитовидной железы крыс.

Материал и методы исследования. Исследование проведено в период с 2014 по 2015 г. в условиях

кафедры морфологии, физиологии и патологии и вивария ФГБОУ ВО Оренбургского ГАУ. При выполнении экспериментальной части исследования руководствовались положениями Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей, и законодательством Российской Федерации.

Объект исследования – щитовидная железа клинически здоровых крыс-самцов линии *Wistar* (массой 300 ± 50 г) в возрасте 3 мес. Все животные содержались в одинаковых условиях, получали стандартный виварный рацион, доступ к корму и питьевой воде был *ad libitum*.

Для эксперимента были сформированы контрольная и две опытные группы ($n=12$ гол.). У крыс I и II опытных групп экспериментальным путём вызывали гипотиреоз. Для моделирования гипофункции щитовидной железы был использован классический тиреостатик «Тирозол®» (H03BV02 – Тиамазол). Препарат разводили водой для инъекций и задавали внутривенно с помощью зонда, в дозе 2,5 мг на 100 г массы животного на протяжении 28 сут.

Крысам II опытной группы дополнительно моделировали термический стресс, для чего клетки с животными подвергали облучению ИК-лампой (ИКЗК250W) с экспозицией 5 час. в сут.

Перед эвтаназией крысам производили пункцию хвостовой вены с целью получения проб крови для дальнейшего её исследования на содержание гормонов. Эвтаназию производили с помощью диэтилового эфира.

Гистологические пробы подвергали тривиальным методам фиксации и окрашивания гематоксилин-эозином, световую микроскопию осуществляли при помощи микроскопа «Micros MSD 500» (Австрия), оснащённого цифровой камерой.

Определение концентрации тиреоидных гормонов, тиреотропного гормона и кортизола в сыворотке крови осуществляли методом твердофазного иммуноферментного анализа на спектрофотометре

«Multiscan Labsystems» (Финляндия) с использованием стандартных наборов реагентов.

Морфометрию гистоструктур проводили при помощи лицензионной программы «Тест Морфо 4.0». Для адекватной оценки морфофункционального состояния железы применяли ряд расчётных индексов, характеризующих её физиологическую активность: ЯПО – ядерно-плазматическое отношение; ПЭИ – просвет-эпителиальный индекс Брауна; Ш – диаметр [7].

Статистическую обработку данных результатов исследований осуществляли с помощью пакета прикладных программ «Statistica 8».

Результаты исследования. В контрольной группе клиническое состояние крыс характеризовалось наличием стабильных показателей. У животных при моделировании гипофункции щитовидной железы резких отклонений от клинических показателей контрольной группы не выявлено. При постепенном нарастании признаков гипотиреоза и сопутствующего действия стресс-факторов у крыс II опытной гр. отмечалась апатия, угнетение, понижение аппетита, повышение температуры на $0,3-0,5^\circ\text{C}$.

Гистоархитектоника щитовидной железы крыс контрольной группы органотипическая. Капсула хорошо развита, рыхлая, содержит сосуды ГМЦР, умеренно инъецированные кровью, паренхима железы трабекулами делится на дольки. Фолликулы вариативны как по форме, так и по размеру (ПЭИ – $15,07 \pm 0,65$; Ш – $189,1 \pm 28,7$ мкм). В периферических дольках железы они крупные, часто неправильной формы, тогда как в её центральных дольках фолликулы меньшего размера и сферической формы. Коллоид в фолликулах гомогенный, бледно-розового цвета. Интерфолликулярный компонент представлен малочисленными эпителиоцитами, клетки Ашкенази не визуализируются (рис. 1А).

Форма тироцита от низкопризматической до кубической (Ш – $12,6 \pm 0,41$ мкм; ЯПО – $1,65 \pm 0,140$), ядра клеток округло-овальной формы

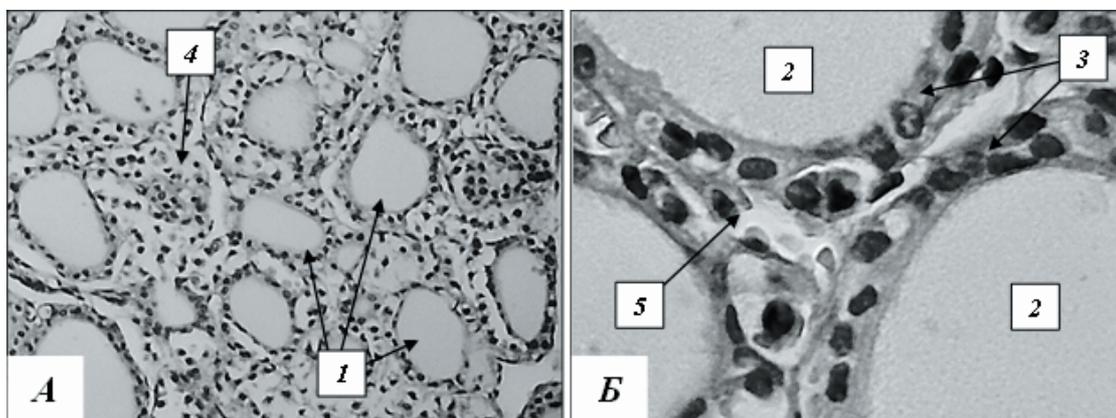


Рис. 1 – Микроморфология щитовидной железы крыс контрольной группы. Гематоксилин и эозин. Об. 40. Ок. 15 (А); Об. 100. Ок. 15 (Б):

1 – фолликулы; 2 – коллоид; 3 – тироциты; 4 – интерфолликулярный эпителий; 5 – капилляры

(Ш – $9,7 \pm 0,34$ мкм), уплощены в продольной плоскости, цитоплазма оксифильная с мелкодисперсной зернистостью (рис. 1Б).

Архитектоника железы при экспериментальном гипотиреозе – гетероморфная. Толщина капсулы и степень инъекции сосудов ГМЦР по сравнению с контролем снижена (рис. 2Б). Форма фолликулов от округло-овальной до звёздчатой (ПЭИ – $5,22 \pm 0,58$; Ш – $90,9 \pm 3,96$ мкм). В центрлобулярных фолликулах коллоид однородный, бледно-розовый, к периферии дольки в коллоиде видны зоны лизиса, а в коллоиде звёздчатых фолликулов выявляются базофильные включения (рис. 2А).

Интерфолликулярный компонент мелкоклеточный, но в сравнении с контрольной группой более высокой плотности, клетки Ашкенази не визуализируются.

Тироциты (Ш – $17,4 \pm 1,19$ мкм) центральных фолликулов имеют ядра округлой формы с участками просветления, содержащие одно, реже два ядрышка (Ш – $12,2 \pm 0,59$ мкм; ЯПО – $1,76 \pm 0,094$). В фолликулах звёздчатой формы морфология тироцитов вариативна (от высокопризматических до уплощённых).

Гистоархитектоника щитовидной железы в состоянии гиподисфункции при воздействии стресс-факторов отличается от контрольной тем, что стромальный компонент железы развит слабее, сосуды ГМЦР сильно инъецированы кровью. Капсула щитовидной железы истончена, слабо васкуляризована. Фолликулы (ПЭИ – $4,15 \pm 0,58$; Ш – $76,5 \pm 5,45$ мкм) значительно деформированы, их форма от округлой до эллипсоидной (рис. 3А). Коллоид в гиподисфункциональных фолликулах красно-розовый, слоистый, а в более мелких фолликулах фрагментирован (за счёт масштабных зон лизиса). В ряде случаев просветы фолликулов пусты. Интерфолликулярный компонент мелкоклеточный, высокой плотности, местами образует сплошные поля (рис. 3Б). Часть капилляров запустевшие, но количество функционирующих микрососудов резко увеличено.

Тироциты (Ш – $18,4 \pm 2,38$ мкм) вариативны по форме и размерам – от низкопризматических до уплощённых, их цитоплазма слабооксифильна, вакуолизована, ядра базофильные, просветлённые, в отдельных тироцитах обнаруживаются ядра на разных стадиях лизиса (Ш – $12,8 \pm 1,91$

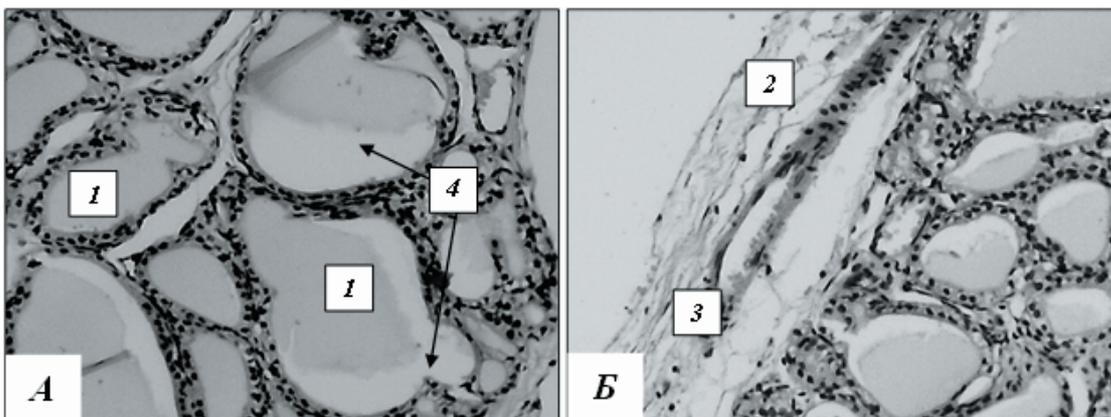


Рис. 2 – Микроморфология щитовидной железы крыс I опытной гр. (гипотиреоз). Гематоксилин и эозин. Об. 40. Ок. 15 (А, Б):

1 – деформированные фолликулы; 2 – истончение и дезорганизация капсулы щитовидной железы; 3 – артериола; 4 – зоны лизиса коллоида

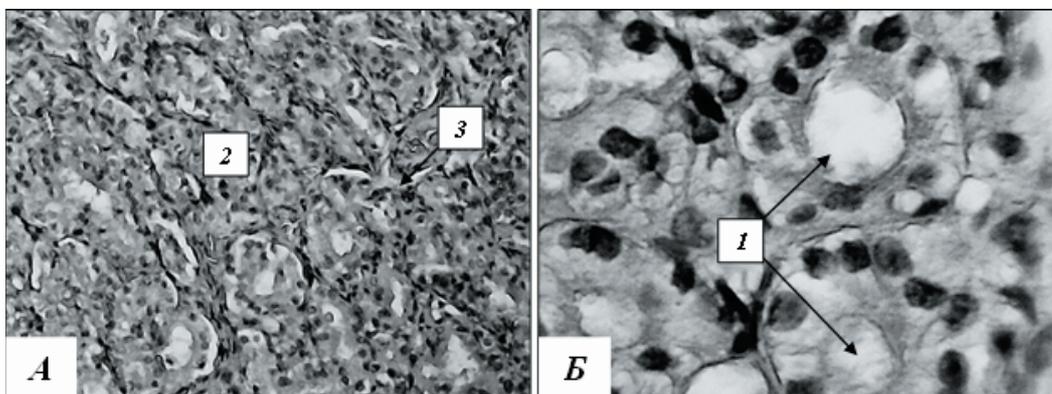


Рис. 3 – Микроморфология щитовидной железы крыс II опытной гр. (гипотиреоз-стресс). Гематоксилин и эозин. Об. 40. Ок. 15 (А); Об. 100. Ок. 15 (Б):

1 – запустевшие фолликулы; 2 – гипертрофия интрафолликулярного эпителия, деформация фолликулов; 3 – капиллярное русло

мкм; ЯПО – $2,07 \pm 0,019$). В интерфолликулярном компоненте обнаруживаются клетки Ашкенази.

Тиреоидный статус крыс I опытной гр. относительно контроля характеризовался повышением уровней ТТГ на 21,4%, снижением уровня oT_3 на 42,9% и понижением концентрации oT_4 на 16,36%. Выявленный гормональный фон характерен для гиподифункционального состояния щитовидной железы. У животных II опытной гр. (гипотиреоз-стресс), относительно контроля отмечали незначительный рост ТТГ – на 14,2% и снижение концентраций oT_4 и oT_3 на 29,6 и 51,6% соответственно, что характеризует тиреоидную супрессию. Уровень кортизола, отвечающий за адаптогенез, при гипотиреозе снизился на 41,6% относительно показателей контрольной гр. При сравнении значений данного гормона в сыворотке крови животных опытных гр. отмечается увеличение концентрации кортизола на 4,8% в экспериментальной модели «Гипотиреоз-стресс» по отношению к гипотиреозной модели.

Вывод. Устойчивость организма к стрессовым воздействиям зависит от тиреоидного статуса, а именно при гипотиреозе адаптивные возможности снижаются, что подтверждается уменьшением концентрации кортизола в сыворотке крови. У животных экспериментальной группы при сочетанном воздействии стресс-фактора и гипотиреоза наблюдается повышение концентрации уровня тиреотропного гормона на 14,2%, который оказал стимулирующее влияние на ядерный и цитоплазматический синтезы в тироцитах (увеличение ЯПО в 1,2 раза), при этом отмечается колебание концентрации кортизола со средним значением, но превышающим норму. Следовательно, полученные

результаты подтверждают стремление организма к эутиреоидному состоянию. На фоне гипотиреоза и воздействия стресс-факторов, несмотря на повышение защитно-адаптационной реакции со стороны организма, в щитовидной железе выявлены изменения гистологических структур органа, обуславливающие снижение синтеза тиреоидных гормонов в сыворотке крови.

Литература

1. Абрамова Л.Л., Мухаметов А.И. Морфофизиология адренальной железы при сочетанном воздействии термического и иммобилизационного стрессов // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. 2013. № 6 (44). С. 212–214.
2. Ясенявская А.Л., Рябыкина Н.В. Влияние иммобилизационного стресса и антиоксидантов на тиреоидную функцию на разных этапах онтогенеза // Естественные науки. 2009. № 4. С. 132–140.
3. Сапронов Н.С., Масалова О.О. Нейрофизиологические эффекты тиреоидных гормонов // Психофармакология и биологическая наркология *Psychopharmacology and Biological Narcology*. 2007. Т. 7. № 2. С. 1533–1541.
4. Чекуров И.В. Морфологический анализ тиреоидной функции продуктивных крольчих при воздействии неорганического селена / Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Агрономия и животноводство, 2013. № 4. С. 35–41.
5. Городецкая И.В., Корневская Н.А. Влияние тиреоидного статуса на интенсивность стресс-реакции при хроническом стрессовом воздействии // Вестник Витебского государственного медицинского университета. 2010. № 4. С. 24–33.
6. Надольник Л.И. Стресс и щитовидная железа // Биомедицинская химия. 2010. Т. 56. Вып. 4. С. 443–456.
7. Чумаченко П.А. Щитовидная железа: морфометрический анализ // Фундаментальные исследования. 2009. № 5. С. 136–141.
8. Farooq U., Samad H.A., Shehzad F. et al Physiological responses of cattle to heat stress / World Applied Sciences Journal 8 (Special Issue of Biotechnology & Genetic Engineering). 2010. P. 38–43.
9. Chekurov I.V., Abramova L.L. Laws of adaptive remodeling of thyrocytes' ultrastructures of rabbits in iodine deficiency / Materials of the IV international research and practice conference «Science and Education», Munich, Germany, 2013. Vol. I. P. 18–19.