

УДК 616. 44 -018 – 06 – 092: 577. 118 : 504. 5(477.52)

ХІМІЧНИЙ ГОМЕОСТАЗ ЩИТОПОДІБНОЇ ЗАЛОЗИ ПІД ВПЛИВОМ МОДЕЛЬОВАНОГО МІКРОЕЛЕМЕНТОЗУ

Р.А. Москаленко

Кафедра патоморфології медичного інституту СумДУ

Робота є складовою частиною науково-дослідної теми "Морфофункціональні особливості перебудови скелета та внутрішніх органів в умовах порушеного гомеостазу" (№ держреєстрації 0107U001287).

Серед забруднювачів навколишнього середовища одне з провідних місць посідають іони важких металів, що навіть у мікродозах можуть спричиняти небезпечні ураження чутливих анатоμο-фізіологічних систем і розвиток патологічних станів. Важкі метали характеризуються високою токсичністю і біохімічною активністю, що дозволяє відносити їх до екоцидних та біоцидних ксенобіотиків (Нейко Є.М та співавт, 2003).

Щитоподібна залоза (ЩЗ) - метаболічно активна тканина, в ній відбувається активний синтез і транспорт гормонів, для нормального функціонування яких необхідна значна кількість ферментів та мікроелементів (МЕ). МЕ входячи до складу ферментів (як кофактори), гормонів та їх рецепторів опосередковано впливають на всі етапи синтезу, транспорту та екскреції гормонів ЩЗ.

Іони важких металів мають фізико-хімічні властивості кислот Льюїса (акцептори електронів) і здатні до ковалентного зв'язування з SH-групами, що обумовлює токсичність іонів важких металів як тілової отрути з вираженими мембранотропними ефектами. Блокування SH-груп відновленого глутатіону та ферментів антиоксидантної дії є біохімічною основою прооксидантної дії солей важких металів, що при інтоксикації призводить до функціональної недостатності антиоксидантного захисту (Нейко Є.М та співавт, 2003).

До 70% загальної кількості іонів важких металів, що забруднюють внутрішнє середовище організму, надходить у тканини людини з продуктами харчування. Об'єднаною комісією ФАО та ВООЗ з харчового кодексу до параметрів, що

підлягають обов'язковому контролю, включено вміст у харчових продуктах ртуті, кадмію, свинцю, міді, цинку та заліза (Дейнека, 1998).

Згідно сучасним уявленням, у цитоплазмі фолікулярних ендокриноцитів (ФЕ) взаємодіють кілька ферментних систем, основними з яких є: йодотранспортуюча, генерації перекису водню та система тиреоїдної пероксидази (Кавок Н.С., 2006). Складна система тиреоїдного гормонопоезу чутлива до дії фізіологічних стимулів, біологічно активних речовин, ксенобіотиків, а також адаптаційних змін, які виникають під впливом факторів зовнішнього середовища.

Окислення та органіфікація йодидів здійснює тиреопероксидаза (ТПО) у присутності H_2O_2 . Важлива роль перексиду водню полягає в тому, що він слугує акцептором електронів у реакціях йодування і конденсації, які здійснюються за допомогою ТПО. Внутрішньоклітинні механізми забезпечують жорсткий контроль процесів утворення і деградації H_2O_2 у ФЕ для попередження токсичної дії даної активної форми кисню (Song Y, et al. 2007). Доведено, що швидкість синтезу перексиду водню в ФЕ на порядок нижче швидкості деградації. Зміна даного співвідношення процесів синтезу/деградації зустрічається при патологічних умовах і може призвести до оксидативного запуску апоптозу (Riou C et al, 1999). Необхідно підкреслити важливе значення антиоксидантної системи у регуляції синтезу тиреоїдних гормонів, яка грає роль «модератора»: інактивуючи активні форми кисню гальмує синтез тиреоїдних гормонів, а при надлишковому синтезу кисневих радикалів – попереджує ушкодження ферментів і, таким чином, сприяє нормалізації гормонпродукуючої функції клітин.

Коферментом ТПО є гем і залізо у трьохвалентному стані, що обумовлює відносно високі рівні вмісту мікроелементу заліза у тканині ЩЗ. Стаціонарний рівень вільного радикального окислення в організмі підтримується завдяки активності ферментних і неферментних антиоксидантних систем (АОС). Початкові стадії процесу вільного радикального окислення (ВРО) контролюються супероксиддисмутазою (СОД), яка дезактивує супероксидний

радикал. СОД має цитозольну та мітохондріальні форми, які відповідно стабілізують мідь та цинк і мідь та марганець. Пероксид водню, який утворюється при дисмутації супероксидного аніону, розкладається каталазою (кофактор-залізо). Зрив антиоксидантного захисту внаслідок будь-якого екзогенного впливу, наприклад надходження значної кількості іонів важких металів, призводить до посилення ВРО і ПОЛ (Гончарук Є.Г. та співав., 2004).

Мета

Дослідити інтенсивність накопичення цинку, міді, свинцю, марганцю, хрому та заліза в тканині ЩЗ піддослідних тварин при їх аліментарному надходженні та виявити закономірності та особливості формування морфологічних перетворень в тиреоїдній паренхімі залежно від віку щурів.

Об'єкти і методи

Експериментальне дослідження проведене на 36 безпородних білих щурах-самцях 1- та 6-місячного віку (статевонезрілих та статевозрілих), які отримували питну воду з комбінацією солей важких металів: цинку ($ZnSO_4 \times 7H_2O$) – 5мг/л, міді ($CuSO_4 \times 5H_2O$) – 1 мг/л, заліза 10 мг/л, марганцю ($MnSO_4 \times 5H_2O$) - 0,1мг/л, свинцю ($Pb(NO_3)_2$) – 0,1мг/л, хрому ($K_2Cr_2O_7$) – 0,1мг/л.

Піддослідні тварини були поділені на дві серії – статевонезрілі та статевозрілі, кожна з серій містила по 3 групи. I група – контрольна, щури обох вікових груп, які знаходились у звичайних умовах віварію та не піддавались впливу зовнішніх чинників; II група – щури обох вікових груп, які на протязі 30 днів отримували суміш солей, III група – щури обох вікових груп, які отримували суміш солей на протязі 60 днів.

Після закінчення термінів експерименту тварин декапітували під ефірним наркозом, ЩЗ ідентифікували і препарували по розробленому автором способу (патент на корисну модель №41235), після чого зважували на аналітичних вагах ВЛА з точністю до 1 мг, спалювали в порцелянових тиглях у муфельній печі при температурі 450 °С протягом 48 годин. Отриманий попіл розчиняли в 10% соляній та азотній кислотах і доводили бідистильованою водою до 10 мл. На атомному абсорбційному спектрофотометрі С-115М1 визначали кількість

цинку (довжина хвилі - 213,9 нм), міді (довжина хвилі - 324,7 нм), свинцю (довжина хвилі - 283,3 нм), марганцю (довжина хвилі - 279,5 нм), хрому (довжина хвилі - 357,9 нм), та заліза (довжина хвилі - 248,3 нм). Для визначення вмісту Zn, Cu, та Fe використовували атомізацію в полум'ї, ідентифікація рівня Pb, Mn та Cr проводили з використанням електротермічної атомізації в графітовій кюветі, використовуючи приставку «Графіт-1».

Результати досліджень та їх обговорення

При дослідженні гістологічної будови ЩЗ статевонезрілих щурів контрольної групи поділ органу на часточки не виражений. Переважає гістологічна картина однорідної дрібнофолікулярної структури паренхіми. Одиначні крупні фолікули розташовуються переважно субкапсулярних зонах. Фолікули переважно округлої форми, компактно розташовані, вислані кубічним або призматичним епітелієм з еозинофільною цитоплазмою.

У результаті проведеного хімічного аналізу тканини ЩЗ статевонезрілих щурів контрольної групи на предмет вмісту в ній цинку, міді, заліза, марганцю, хрому та свинцю встановлено їх рівні вмісту $948,06 \pm 48,83$ мкг/г, $19,29 \pm 1,21$ мкг/г, $10234,52 \pm 380,92$ мкг/г, $106,47 \pm 2,24$ мкг/г, $135,66 \pm 9,73$ мкг/г та $9,67 \pm 0,83$ мкг/г відповідно.

На 30 добу експериментального дослідження ЩЗ піддослідних тварин макроскопічно збільшена у розмірах. Капсула органа рівномірно розрихлена.

Частки розташовані компактно. Інтенсивність забарвлення колоїду зростає, спостерігаються фолікули з дрібнозернистою структурою колоїду. На периферії часток колоїд забарвлений більш інтенсивно. Гемокапіляри розширені, в них частіше виявляється венозний застій, набряк периваскулярної стромы. Слід відмітити наявність десквамованого епітелію. Зросла кількість грубої волокнистої стромы та дегенеративних структур у паренхімі залози.

30 днів вживання солей цинку, міді, заліза, марганцю, хрому та свинцю в надлишковій кількості призводить до збільшення їхнього вмісту в тканині ЩЗ відносно контрольних даних на 33,51% ($p < 0,01$), 89,11% ($p < 0,001$), 41,07% ($p < 0,001$), 29,74% ($p < 0,001$), 205,73% ($p < 0,001$) та 47,25% ($p < 0,01$) відповідно.

Після 60 днів експерименту в тканині ЩЗ піддослідних статевонезрілих щурів виявляються ознаки склерозу міжчасточкових стромальних прошарків та капілярсклерозу, що підкреслює межі часточок. Значно більше виявляється часточок з великими фолікулами, епітелій яких різноманітний по розміру і стану цитоплазми. Виявляються значна кількість злушеного епітелію у просвіт фолікула, ділянки оголення базальної мембрани. Ближче до капсули наявні ділянки спадіння фолікулів і перетворення їх на щілиноподібні структури – прояви процесів елімінації тиреоїдної паренхіми.

На 60 день підвищеного споживання солей важких металів виявлено тенденцію до зниження інтенсивності процесів накопичення екзогенних елементів, що може бути проявом адаптаційних процесів. Вміст цинку зріс на 50,56% ($p < 0,001$) в порівнянні з контрольною групою, міді – на 128,93% ($p < 0,001$), заліза – на 47,66% ($p < 0,001$), марганцю – на 40,63% ($p < 0,001$), хрому – на 350,59% ($p < 0,001$) та свинцю – на 68,15% ($p < 0,001$) (рис 1).

Досліджуючи вміст мікроелементів у тканині ЩЗ статевозрілих щурів контрольної групи, отримані наступні середні рівні їх концентрації: цинк – $958,77 \pm 48,83$ мкг/г, мідь – $20,24 \pm 0,84$ мкг/г, заліза – $10375,22 \pm 155,14$ мкг/г, марганець – $108,57 \pm 3,06$ мкг/г, хром – $137,33 \pm 8,62$ мкг/г, свинець – $9,79 \pm 0,66$ мкг/г.

На 30 день експериментального дослідження статевозрілих щурів збільшується розмір фолікулів, відмічається поліморфізм форми і розмірів часточок, деякі часточки зменшені в розмірах. Тироцити мають кубічну форму, спостерігається зменшення їх висоти, більш чітко виражений апікальний край. Наявні випадки вакуолізації і лізису ядер. Гемокапіляри розширені, в них частіше виявляється венозний застій, набряк периваскулярної строми, потовщення стінки. Кількість десквамованого епітелію помірна. Виявляється груба волокниста строма та дегенеративні структури у паренхімі залози.

При дослідженні хімічного складу щитоподібної залози статевозрілих щурів після 30 днів впливу мікроелементозу в порівнянні з контрольною групою спостерігається підвищення рівнів: цинку – на 22,37% ($p < 0,01$), міді –

на 66,7% ($p < 0,001$), заліза – на 37,0% ($p < 0,01$), марганцю – на 20,23% ($p < 0,01$), хрому – на 175,56% ($p < 0,001$), свинцю – на 39,73% ($p < 0,01$).

Аналізуючи морфологічні зміни тканини ЩЗ після 60-денного впливу комбінації солей важких металів, слід відзначити значне збільшення кількості великих фолікулів зі сплосченим тиреоїдним епітелієм, конденсованим рожевим колоїдом, деформованими ядрами тироцитів. Часточки паренхіми ЩЗ добре відмежовані одна від одної набряклою та склеротизованою стромою, відмічається редукція фолікулів і вогнища елімінації паренхіми, як правило, з паракапсулярною локалізацією. У просвіті фолікулів периферійних і центральних ділянок виявляється значна кількість десквамованого епітелію, ці фолікули з ознаками аварійної резорбції. Серед десквамованого епітелію можна помітити великі клітини з дегенеруючою цитоплазмою, ознаками розпаду і утворенням апоптозних тіл.

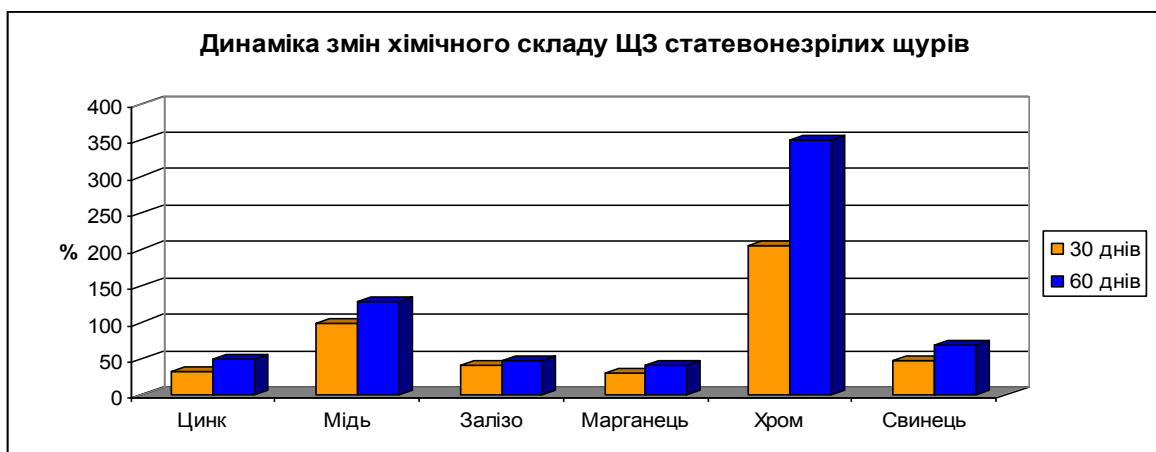


Рис. 1. Динаміка змін хімічного складу ЩЗ статевонезрілих щурів

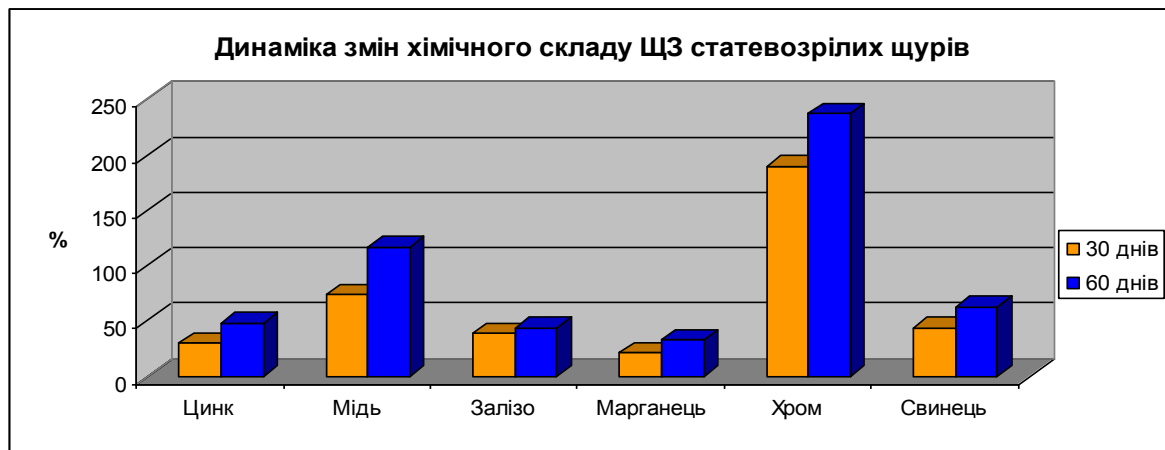


Рис. 2. Динаміка змін хімічного складу ЩЗ статевозрілих щурів.

Після 60 днів експерименту у тканині ЩЗ статевозрілих щурів визначено подальше накопичення мікроелементів у порівнянні з контрольною групою: цинку – на 39,41% ($p < 0,001$), міді – на 101,88% ($p < 0,001$), заліза – на 42,44% ($p < 0,001$), марганцю – на 30,67% ($p < 0,01$), хрому – на 222,63% ($p < 0,001$), свинцю – на 57,2% ($p < 0,001$) (рис 2).

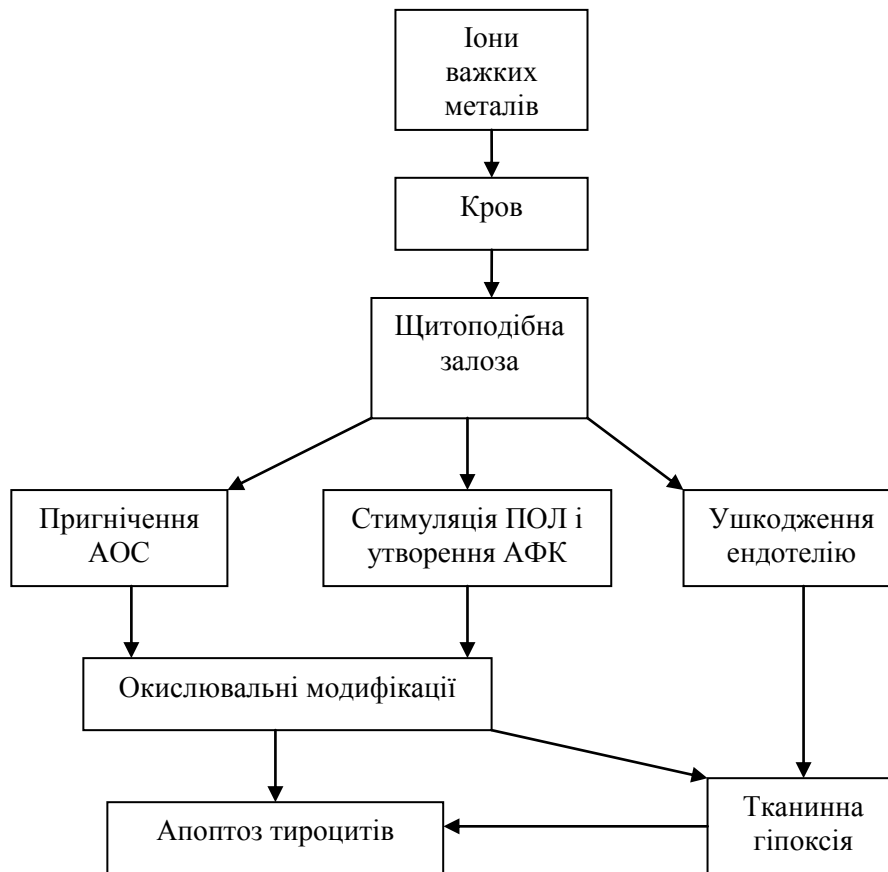


Схема 1. Індукція оксидативного апоптозу у тироцитах іонами важких металів.

Аналізуючи зміни хімічного складу ЩЗ обох груп, можна відмітити значне підвищення рівнів вмісту іонів важких металів спостерігається після 30 днів впливу мікроелементозу. У терміні 60 днів у досліджуваних тварин обох вікових серій темпи накопичення важких металів дещо знижуються, що може пояснюватися компенсаторно-приспосувальними реакціями організму. Організм статевозрілих щурів пристосовується до впливу мікроелементозу краще, так як рівень накопичення іонів важких металів у них нижче, незважаючи на більшу гормональну активність.

Морфологічні зміни, які характерні для апоптозу, присутні і в нормальній ЩЗ, проте у фізіологічних умовах його рівень низький (Комаревцева Е.В, 2008). Підвищене надходження іонів важких металів індукує ПОЛ та ВРО, що призводить до порушення роботи АОС, ферментів синтезу тиреоїдних гормонів, а також до запуску оксидативного апоптозу (схема 1). У ході гістологічного дослідження зразків тканини ЩЗ щурів простежується зв'язок між тривалістю впливу мікроелементозу та морфологічними змінами, особливо явищем десквамації фолікулярного епітелію. Десквамації епітелію є процесом відмирання клітин, тісно пов'язаним з апоптозом, так як відсутня запальна реакція і у злущеному епітелії виявляються оксифільні апоптозні тільця. Таким чином, явище десквамації фолікулярного епітелію можна розглядати як морфологічний маркер оксидативного апоптозу в умовах мікроелементозного стану.

Висновки

Приймаючи до уваги інтегрованість МЕ у метаболізм ЩЗ, порушення будь-якої з ферментативних ланок процесу утворення гормонів залози призводить до змін хімічного складу тканини, які можуть відображати морфофункціональний статус органу.

Морфологічні та хімічні зміни у ЩЗ статевозрілих щурів менш виражені, що може відображати більшу зрілість компенсаторно-приспосувальних процесів і стійкість морфологічної системи «щитоподібна залоза»

Морфологічним маркером оксидативного апоптозу, який індукується надлишковими надходженнями іонів важких металів в організм і тканину ЩЗ, може виступати десквамація тиреоїдного епітелію у просвіт фолікула.

Перспективи подальших досліджень

В подальшому планується вивчити можливість корекції виявлених змін препаратом Глутаргін®.

Список літератури

1. Гончарук Є.Г. Вільнорадикальне окислення як універсальний неспецифічний механізм пошкоджуючої дії шкідливих чинників

- довкілля/ Є.Г. Гончарук, М.М. Коршун// Журнал АМН України. – 2004. – Т.10, №1. – С. 131-150.
2. Дейнека С.Є. Зменшення цитотоксичної дії ряду солей металів під впливом лазерного випромінювання низької інтенсивності/ С.Є. Дейнека// Журнал АМН України. – 1998. – Т.4, №2. – С. 370-375.
 3. Кавок Н.С. Структура и регуляция ферментов тиреоидного гормонопозза/ Н.С.Кавок//Укр. біохім. журн.–2006.–Т.78, №1.–С. 5-19.
 4. Комаревцева Е.В. Диагностическое и прогностическое значение уровня апоптоза в тканях щитовидной железы у больных с очаговой тиреоидной патологией/ Е.В. Комаревцева//Укр. журн. клінічної та лабораторної діагностики. – 2008. – Т.3, №1. – С. 84-88.
 5. Нейко Є.М. Інтотоксикація кадмієм: токсикокінетика і механізм біоцидних ефектів/ Є.М. Нейко, Ю.І. Губський, Г.М. Ерстенюк// Журнал АМН України. – 2003. – Т.9, №2. – С. 262-277.
 6. Riou C, Topoli H, Bernier-Valentin F et al. 1999. Susceptibility of differentiated thyrocytes in primary culture to undergo apoptosis after exposure to hydrogen peroxide: relation the level of expression of apoptosis regulatory proteins, Bcl2 and bax. *Endocrinology*. 140: 1990-1997.
 7. Song Y, Driessens N, Costa M et al. 2007 Roles of Hydrogen Peroxide in Thyroid Physiology and Disease. *J Clin Endocrinol Metab*. 92: 3764-3773.

Резюме. У роботі представлені дані дослідження тканини щитоподібної залози 36 щурів різних вікових груп, які протягом 60 днів отримували з питною водою солі цинку, міді, заліза, марганцю, хрому та свинцю. За допомогою анатомічних та гістологічних методів та методу спектрофотометрії в атомно-абсорбційному режимі встановлено, що морфологічні зміни тканини посилюються зі зростанням терміну експерименту, зростання вмісту іонів важких металів у тканині щитоподібної залози більш виражене у терміні 30 днів у статевонезрілих щурів і у подальшому відмічається зниження темпів їх накопичення. У роботі розглядається вплив іонів важких металів на апоптоз тироцитів.

Ключові слова: щитоподібна залоза, солі важких металів, мікроелементоз, морфологічні зміни, хімічний склад, десквамація епітелію, апоптоз.

Резюме. В работе представлены данные исследования ткани щитовидной железы 36 крыс различных возрастных групп, которые на протяжении 60 дней получали с питьевой водой соли цинка, меди, железа, марганца, хрома и свинца. С помощью анатомических, гистологических методов и метода спектрофотометрии в атомно-абсорбционном режиме установлено, что морфологические изменения ткани усиливаются с увеличением срока эксперимента, возрастание содержания ионов тяжелых металлов в ткани щитовидной железы более выраженное в сроке 30 дней у половозрелых крыс, в дальнейшем отмечается снижение темпов их накопления. В работе рассматривается влияние ионов тяжелых металлов на апоптоз тироцитов.

Ключевые слова: щитовидная железа, соли тяжелых металлов, микроелементоз, морфологические изменения, химический состав, десквамация эпителия, апоптоз.

Moskalenko R.A. Chemical homeostasis of the thyroid gland under the influence of simulated microelementosis.

Summary. The work presents the results of the research of a thyroid tissue of 36 laboratory rats of different ages which have been drinking water with salts of zinc, cooper, iron, manganese, chrome and lead within 60 days. By means of anatomical, histological and spectrochemical methods it was established: the most significant morphological changes was increase with the growing terms of the experiment, concentration of ions in 30 days of experiment was the highest in the thyroid gland of young aged rats, at the end of the experiments the decreasing of the speed of their accumulation was observed. This work consideres the influence of ions of heavy metals on apoptosis of thyrocytes.

Key words: thyroid gland, salts of heavy metals, microelementosis, morphological changes, chemical compound, desquamation of epithelium, apoptosis.