

УДК 616.45-001.1/3 + 612.44 + 612.438

Л. Пазюк, канд. біол. наук,
М. Держинський, д-р біол. наук,
Н. Олексієнко, канд. біол. наук,
Н. Бузинська, канд. біол. наук

РЕАКЦІЯ ТИМУСА ТА ГІПОТАЛАМО-ТИРЕОЇДНОЇ СИСТЕМИ НА ХОЛОДОВИЙ СТРЕС ЗА УЧАСТЮ АДРЕНЕРГІЧНИХ СИСТЕМ ГОЛОВНОГО МОЗКУ

Гістофізіологічними, морфометричними, статистичними методами досліджено реакцію тимуса, щитовидної залози, гіпоталамуса і гіпофіза птахів одномісячного віку на хронічне охолодження та участь в цих процесах α -адренорецепторів головного мозку. В експерименті використовували 2-годинне щоденне охолодження птахів при температурі -18°C на тлі введення фармакологічних препаратів (мезатон, празозин) протягом 3-х, 7-и та 14-и днів дослідження. Встановлено, що α -адренергічні системи головного мозку залучаються до реакції адаптації птахів на охолодження, справляючи стимулюючий вплив на тиреоїдну систему і тимус, і тим самим підвищуючи резистентність організму до дії стресорів.

It was researched of 1-month old chicken thymus, thyroid gland, hypothalamus and pituitary gland reaction on chronic cooling by histophysiological, morphometric and statistic methods. It was researched the role of brain α -adrenoreceptors in that processes. For 3-, 7- and 14 days the birds were treated (mesaton or prazosin) and cooling at -18°C for 2 hours a day. It was shown that brain α -adrenergic system play the role in cool adaptation reaction and stimulate thymus, thyroid system. In that way the anti-stress resistance of bird was increased.

Вступ. Тимус є центральним лімфоїдним органом, який володіє ендокринною функцією. Існують експериментальні дані, що підтверджують наявність нейроендокринної регуляції тимуса, зокрема функцій ретикулоепітеліоцитів та диференціації тимоцитів [8, 7, 3]. В свою чергу тимусектомія порушує функції аденогіпофіза та впливає на адренергічні структури мозку і гіпоталамус [6]. Доведено, що підвищені рівні кортикостероїдів надирників викликають інволюцію тимуса, однак базальні рівні кортикостероїдів мають позитивний вплив на розвиток тимоцитів [5]. При дії на організм надзвичайно сильних подразників реакція тимуса описана як акцидентальна інволюція, що проявляється масовою міграцією лімфоцитів до кровотоку, апоптозом тимоцитів і зміною гістоструктури тимуса: атрофією, зникненням чіткої межі між зонами часточок тимуса, розростанням сполучної тканини і як результат зниженням імунітету [2, 4, 9]. В свою чергу, нами показано, що на холодний стрес зокрема активується функція щитовидної залози у птахів [1]. Ось тому ми вирішили порівняти вплив хронічного охолодження на розвиток адаптаційної реакції тимуса та гіпоталамо-гіпофізарно-тиреоїдної системи птахів й участь в цих процесах α -адренорецепторів головного мозку.

Об'єкт та методи досліджень. Дослід проводили на статевонедозрілих самцях курей (*Gallus domesticus*) кросу HyLine (Голландія) одномісячного віку, яких щодобово по 2 год охолоджували у морозильній шафі при температурі -18°C на тлі введення фармакологічних препаратів протягом 3-х, 7-и та 14-и днів дослідження. Птахи контрольної серії одержували по 1 мл чистого 0,9% розчину хлориду натрію. У другій серії дослідження птахам внутрішньом'язово вводили в дозі 0,07 мг на 100 г маси тіла мезатон (фенілефрин) – активатор постсинаптичних α_1 -адренорецепторів. Птахи третьої серії дослідження перорально отримували празозин (піперазин) в дозі 0,03 мг на 100 г маси тіла, який є α_1 – адреноблокатором.

Наприкінці дослідів птахів усіх груп декапітували. Аденогіпофізи та тимуси фіксували у рідині Буена, а щитовидні залози – у 10% розчині формаліну. Далі матеріал обробляли традиційними гістологічними методами. Зрізи щитовидних залоз та тимуса завтовшки 5–6 мкм забарвлювали гематоксиліном Бюмера та еозинном. Зрізи аденогіпофізів – паральдегідфуксином та метиленовим синім.

Морфометричні вимірювання діаметру ядер тиреоцитів аденогіпофіза (мкм), висоти тиреоїдного епітелію (мкм) та внутрішнього діаметру фолікулів щито-

видної залози (мкм) проводили за допомогою окуляр-мікрометра МОВ-1-15^х на світловому мікроскопі. Визначення площі кіркової та мозкової зон часточок тимуса та щільності тимоцитів проводили за допомогою установки System Microscope з відеокамерою Olympus BX 41 hystem, обладнаного цифровою фотокамерою Camedia C-5050 zoom і програмним забезпеченням Olympus DP 80 FT 3.2 на базі комп'ютера Pentium 4 з операційною системою Windows XP. Обробку мікрофотографій гістологічних препаратів отриманих на цифровому аналізаторі проводили за допомогою програми Medical Image Analyser (Version 1.0 (c) 2000 Powered by Ander).

Рівень тироксину у плазмі крові піддослідних птахів визначали імуноферментним методом за допомогою стандартного набору "Тирод ІФА-тироксин" (Росія).

Статистичну обробку даних здійснювали за t-критерієм Ст'юдента з використанням програмного забезпечення STATISTICA for Windows 5.0.

Результати та їх обговорення. Спостереження показали, що у птахів, яким вводили мезатон і проводили 2-годинні охолодження протягом 3-х днів морфометричні зміни у тимусі були несуттєвими. Розмір кіркової та мозкової зон часточки тимуса та висота тиреоцитів не відрізнялись від аналогічних показників у контрольній серії (табл. 1). Але встановлено, що вірогідно зменшувалась щільність тимоцитів в кірковій зоні до $23,19 \pm 0,27$ (у контролі – $24,87 \pm 0,21$), що свідчить про виселення їх до мозкового шару і, в цілому, із тимусу і може трактуватися як реакція на стрес.

На гістологічних препаратах фолікули щитовидних залоз цієї серії заповнені світлим колоїдом, який по периферії містив в собі резорбційні вакуолі на відміну від контролю. Тиреоїдний епітелій набував кубічної форми і його висота була на рівні контрольних показників. При цьому виявлено підвищений рівень тироксину в крові – $21,72 \pm 0,28$ нмоль/л ($p \leq 0,05$). Отже можна констатувати, що синтетичні процеси у щитовидній залозі суттєво не змінювались, але посилювались процеси виведення гормонів у кров на тлі помірного його синтезу в тиреоцитах оскільки вони відіграють терморегуляторну роль в організмі.

За принципом зворотних зв'язків можна пояснити реакцію тиреоцитів аденогіпофіза, що проявлялася вірогідним зменшенням діаметру ядер до $4,73 \pm 0,30$ мкм. Аналогічні зміни були у нейроцитах ПВЯ гіпоталамуса піддослідних тварин, середній розмір діаметру ядер цих нейронів вірогідно зменшувався до $7,24 \pm 0,07$ мкм порівняно із контролем ($7,69 \pm 0,08$ мкм).

Таблиця 1. Морфологічні показники гіпофізарно-тиреоїдної системи і тимуса птахів в різних серіях досліду

Серії досліду	Площа перерізу часточки тимуса (мкм ²)		Щитовидна залоза		Діаметр ядер тиро-тропоцитів аденогіпо-фіза (мкм)
	Кіркова зона	Мозкова зона	Висота тироцитів (мкм)	Тироксин (нмоль/л)	
3 дні охолодження					
Контроль	182,74±1,24	191,82±1,59	5,78±0,06	20,85±0,10	5,02±0,45
Мезатон	180,85±1,49	192,00±1,32	5,80±0,05	21,72±0,28*	4,73±0,30*
Празозин	183,77±2,53	191,65±2,46	5,24±0,06*	21,37±0,32	5,00±0,58
7 днів охолодження					
Контроль	184,80±2,97	194,40±2,34	5,88±0,06	21,30±0,55	4,70±0,08
Мезатон	244,10±3,57*	256,11±4,02*	6,58±0,09*	23,04±0,56*	4,44±0,09*
Празозин	189,50±2,37	191,30±2,10	4,62±0,05*	22,85±0,46	4,45±0,05*
14 днів охолодження					
Контроль	189,32±2,80	202,34±2,87	6,12±0,06	23,20±0,40	4,81±0,41
Мезатон	195,25±3,40*	210,51±3,86*	7,32±0,09*	27,45±0,15*	4,50±0,43*
Празозин	191 20±2 75	193 20±3 10	5 94±0 67	24 36±1 41	4 48±0 45*

*- різниця між контрольною та піддослідними групами вірогідна при $p \leq 0,05$

Як ми й очікували блокада α -адренорецепторів празозином протягом 3-х днів приводила до зниження висоти тироцитів щитовидної залози до $5,24 \pm 0,06$ мкм ($p \leq 0,05$), що набували переважно плоскої форми, при цьому інтрафолікулярний колоїд у фолікулах ущільнювався. Однак рівень тироксину в крові не відрізнявся від показників контрольної групи (табл. 1). Але все ж таки можна констатувати, що щитовидна залоза перебувала у стані зниженої секреторної активності з пригніченим синтезом та посиленням депонуванням гормонів у порожнині фолікулів.

При цьому не відрізнялись від аналогічних показників площа перерізу кіркової та мозкової зон часточок тимуса, хоча вірогідно зростала щільність тимоцитів мозкової зони до $15,06 \pm 0,27$ (у контролі – $14,04 \pm 0,27$), що ймовірно свідчить про процеси виселення тимоцитів кіркової зони тільки у мозковий шар часточки тимуса.

При морфологічному дослідженні розміри ядер тиро-тропоцитів аденгоіпофіза та нейроцитів ПВЯ гіпоталамуса не змінювались. У цій ділянці переважали темнозбарвлені нейрони, які депонували нейросекреторну субстанцію у перикаріонах та відростках, тобто ці ознаки свідчили про суттєве зниження процесів виведення нейрогормонів у кров.

Таким чином, якщо при 3-денному охолодженні на тлі введення α -адреноміметика мезатону спостерігали деякі перші ознаки посилення функції тимуса та тироїдної системи на хронічне охолодження, тоді як при блокаді празозином прояви адаптаційної реакції на дію низької температури майже не відрізнялись від контрольної серії, але мали протилежну тенденцію порівняно з серією досліду при введенні мезатона.

У наступній серії досліду, коли птахів охолоджували до 7-и днів і вводили мезатон, спостерігали водночас підвищення функціональної активності як тимуса, так і щитовидної залози.

При аналізі гістологічних препаратів тимуса виявлено вірогідне збільшення площі перерізу кіркової і мозкової зон часточки тимуса (табл. 1). Ці дані підтверджувались вірогідним збільшенням щільності тимоцитів у кірковій та мозковій зоні часточки тимуса відповідно до $28,03 \pm 0,39$ ($26,22 \pm 0,32$ – у контролі) та до $16,98 \pm 0,27$ ($14,95 \pm 0,29$ – у контролі). Таким чином, отримані результати свідчать про посилення процесів проліферації попередників Т-лімфоцитів з подальшою диференціацією у корі та виселенням їх до мозкової зони часточки тимуса, що в свою чергу є відповіддю на стрес.

У складі паренхіми щитовидної залози цих птахів нами були виявлені фолікули із світло забарвленим, розрідженим колоїдом, у складі якого містилися великі резорбційні вакуолі. Ці фолікули були виселені тиро-

цитами кубічної та призматичної форми, висота яких по відношенню до контролю вірогідно збільшувалася і становила $6,58 \pm 0,09$ мкм. Рівень тироксину в плазмі крові також виявився високим порівняно з контролем і складав $23,04 \pm 0,56$ нмоль/л, тоді як в контролі становив $21,30 \pm 0,55$ нмоль/л.

Аналіз реакції нейросекреторних клітин у ділянці ПВЯ гіпоталамуса дозволив виявити ознаки зниження функціональної активності, хоча популяція цих клітин мала світлозбарвлену цитоплазму, в якій був відсутній нейросекреторний матеріал, що вказувало на активні процеси виведення гормонів. За даними морфометричних вимірювань діаметр ядер нейроцитів ПВЯ зменшувався до $7,34 \pm 0,07$ мкм ($p \leq 0,05$; у контролі – $7,78 \pm 0,08$ мкм). Аналогічні зміни виявлені і в тиро-тропоцитах аденгоіпофіза. Такий ефект можна вважати цілком виправданим, оскільки функція щитовидної залози була підвищеною і за принципом негативних зворотних зв'язків саме нейроцити ПВЯ гіпоталамуса й тиро-тропоцити аденгоіпофіза як центральні ланки нейрогуморальної регуляції реагували зниженням своєї секреторної активності.

Напроти, у птахів на 7 день гіпотермії з ін'єкціями блокатора адренорецепторів празозину, у щитовидній залозі спостерігали ще більш помітні морфологічні зміни, які свідчили про зниження її функції: висота тироцитів вірогідно зменшувалася і складала $4,62 \pm 0,05$ мкм (табл. 1); внутрішньофолікулярний колоїд був досить щільний та не мав резорбційних вакуолей. Водночас концентрація тироксину була на рівні контрольних показників. Наведені дані свідчили про суттєве пригнічення синтетичної активності щитовидної залози, тоді як процеси виведення гормонів майже не змінювались.

При цьому не виявлено суттєвих змін в тимусі за площею перерізу зон часточки, які були наближені до показників контролю (табл. 1). Але щільність тимоцитів у мозковій зоні продовжувала вірогідно збільшуватись до $16,82 \pm 0,24$ проти $14,95 \pm 0,29$ у контролі, що свідчить про виселення зрілих тимоцитів із кіркової зони до мозкової зони часточки.

На зрізах аденгоіпофізів цієї серії досліду тиро-тропоцити мали вигляд помірно синтезуючих клітин із незначною кількістю гранул та ядром, розмір якого вірогідно зменшувався до $4,45 \pm 0,05$ мкм. При цьому схожі зміни відбулися в нейроцитах ПВЯ гіпоталамуса, розмір їх ядер становив $7,12 \pm 0,09$ мкм ($7,78 \pm 0,08$ мкм – у контролі).

Підсумовуючи наведені дані можна констатувати про поглиблення адаптаційної реакції гіпоталамо-тиреоїдної системи і тимуса на хронічне охолодження протягом 7-и днів на тлі введення α -адреноміметика мезатону, що дозволяє припустити участь α -адренергічної системи мозку в стресорних реакціях.

Виявлена активація функціонального стану тимуса та щитовидної залози на хронічне охолодження сприяє підвищенню резистентності організму до дії низьких температур. При цьому одержані дані дослідів з блокадою α -адренорецепторів празозином переважно свідчили про гальмування реакції на охолодження, що, в свою чергу, доповнюють зроблене нами припущення.

Птахам наступної серії вводили α -адреноміметик мезатон на тлі 14-денних охолоджень. Встановлено, що тимус цих птахів складався із часточок, в яких площа перерізу кіркової та мозкової речовини залишалася вірогідно збільшеною як на 7-й день, так і на 14-й день охолодження порівняно з контрольними значеннями (табл. 1). Ці дані узгоджуються із достовірним зростанням щільності тимоцитів кіркової зони тимуса до $29,47 \pm 0,31$ у порівнянні з контролем – $26,66 \pm 0,30$, що говорить про подальшу інтенсифікацію процесів розмноження тимусзалежних лімфоцитів.

При цьому в щитовидній залозі птахів виявлені фолікули, що вистелені тироцитами переважно призматичної форми, а їхня висота досягала найбільших у нашому досліді значень – $7,32 \pm 0,09$ мкм ($p < 0,05$). У цитоплазмі виявляли секреторні гранули і крупні ядра в центральній частині клітини. Колоїд був однорідної консистенції, помірно забарвлений, містив в собі численні резорбційні вакуолі. При цьому рівень тироксину досягав високих значень $27,45 \pm 0,15$ нмоль/л проти $23,20 \pm 0,40$ нмоль/л у контролі. Отже щитовидна залоза під час 14-денного охолодження на тлі мезатону перебувала у стані високого функціонального напруження.

Разом з тим активність тиреотропоцитів аденогіпофіза знижувалась, що підтверджується вірогідним зменшенням діаметру ядер тиреотропоцитів до $4,50 \pm 0,43$ мкм, тоді як у контролі $4,81 \pm 0,41$ мкм. У цитоплазмі спорідненість до барвнику значно знижувалась, і клітини набували більш рожевого відтінку, що свідчило про зменшення продукції гормону.

За даними морфометричних підрахунків діаметр ядер нейроцитів ПВЯ гіпоталамуса не відрізнявся від контролю і складав $6,63 \pm 0,09$ мкм. Тут переважно виявлялися нейрони, що накопичували в цитоплазмі значну кількість нейросекреторних гранул, тобто мале місце пригнічення процесів виведення нейросекрету. Як і в попередніх серіях реакція гіпоталамо-гіпофізарної системи є результатом впливу високих концентрацій тироксину в крові піддослідних птахів.

Напроти, у серії дослідів з 14-денним охолодженням в поєднанні з адренолітиком празозином встановлено, що щитовидна залоза складена фолікулами, які вистелені плоскими та кубічними тироцитами. При цьому спостерігали досить щільний інтрафолікулярний колоїд без резорбційних вакуолей, що вказує на посилення процесів депонування тиреоїдних гормонів в середині фолікулів.

При цьому на гістологічних препаратах тимуса нами не виявлено суттєвих змін за розмірами зон часточок тимуса порівняно з попередніми серіями (табл. 1). Однак як на 3-й і 7-й дні охолодження, так і на 14-й день, щільність Т-лімфоцитів в мозковій зоні тимуса вірогідно збільшувалась, тобто продовжувалось виселення зрілих тимоцитів до мозкової зони.

Одержані дані про секреторну активність тиреотропоцитів аденогіпофіза свідчили про зниження їх функції: діаметр їх ядер вірогідно зменшувався до $4,48 \pm 0,45$ мкм порівняно з контролем.

Аналогічні зміни відзначали у ділянці ПВЯ гіпоталамуса. Встановлено, що діаметр ядер цих нейроцитів вірогідно зменшувався до $6,14 \pm 0,07$ мкм проти $6,37 \pm 0,09$ мкм у контролі. Нейросекреторні клітини ПВЯ належали до темнозабарвлених нейроцитів, що характеризувались як зниженим синтезом, так і виведенням нейрогормонів.

Отже, у віддалені терміни охолодження на тлі введення α -адреноміметика мезатону (14-й день) функція тимуса посилювалась, що свідчить про пригнічення проявів акцидентальної інволюції тимуса у відповідь на холодний стрес. При цьому також значно підвищувалась секреторна активність щитовидної залози. Блокада α -адренорецепторів празозином на 14-й день охолодження була менш ефективною порівняно з іншими термінами охолодження.

Висновки. При стимуляції α -адренорецепторів мезатоном на тлі хронічного охолодження посилювалась функція тимуса, що проявлялось в збільшенні площі перерізу його часточок та щільності тимоцитів. Водночас значно підвищувалась біосинтетична активність щитовидної залози, що корелювало із зниженням активності тиреотропоцитів аденогіпофіза та нейроцитів ПВЯ гіпоталамуса за принципом негативних зворотних зв'язків. Блокада α -адренорецепторів празозином на тлі гіпотермії не викликала суттєвих морфологічних змін в тимусі, але посилювалось виселення тимоцитів до мозкової зони часточки тимуса. При цьому знижувалась синтетична активність у тироцитах щитовидної залози, пригнічувалась тиреотропна функція аденогіпофіза й активність нейроцитів ПВЯ гіпоталамуса. α -адренергічні системи головного мозку залучаються до реакції адаптації птахів на охолодження, справляючи стимулюючий вплив на нейроендокринну систему та пригнічуючи прояви акцидентальної інволюції тимуса. Підвищення функціональної активності нейроімунноендокринної системи посилює резистентність організму до дії стресорів.

1. Олексієнко Н.В., Пазюк Л.М., Бузинська Н.О., Держинський М.Е. Зміна гістофізіології щитоподібної залози під впливом адренергічних та холінергічних систем на тлі гіпотермії // Ендокринологія. – 2004. – Т. 9. – № 1. – С. 101–105. 2. Футорный С.М., Позур В.К. Состояние иммунной системы под влиянием стресса // Иммунология та алергология. – 2005. – N 1. – С. 48–52. 3. Haeryfar S.M., Berczi I. The thymus and the acute phase response // Cell Mol Biol. – 2001. – Vol. 47. – № 1. – P. 145–156. 4. Hatanaka K., Ikegaya H., Takase I., Kobayashi M., Iwase H., Yoshida K. Immobilization stress-induced thymocyte apoptosis in rats // Life Sci. – 2001. – Vol. 69. – N 2. – P. 155–165. 5. Jordal M., Pazirandeh A., Okret S. Different roles for glucocorticoids in thymocyte homeostasis? // Trends Immunol. – 2004. – Vol. 25, N 11. – P. 595–600. 6. Kinoshita Y., Hato F. Cellular and molecular interactions of thymus with endocrine organs and nervous system. // Cell Mol Biol. – 2001. – Vol. 47. – N 1. – P. 103–117. 7. Marcovic L. Interaction involving the thymus and the hypothalamus-pituitary axis, immunomodulation by hormones // Srp Arh Celok Lek. – 2004. – Vol. 132. – N 5-6. – P. 187–193. 8. Savino W., Dardenne M. Neuroendocrine control of thymus physiology // Endocr Rev. – 2000. – Vol. 21, N 4. – P. 412–443. 9. Zivkovic I., Rakin A., Petrovic-Djergovic D., Miljkovic B., Micic M. The effects of chronic stress on thymus innervation in the adult rat // Acta Histochem. – 2005. – Vol. 106, N 6. – P. 449–458.

Надійшла до редколегії 28.03.08