

UDK 612.664:616.441:17-1

Emilija Nenezić,¹ Milica Matavulj,² Josif Milin³

STRUKTURNE PROMENE TIREOIDNE ŽLEZDE U LAKTACIJI POD DEJSTVOM ALKOHOLA

Uvod

Alkoholizacija majki za vreme graviditeta ima štetan efekat na rast i razvoj njihovih potomaka, i to kako u ljudi (Streissguth et al., 1980, Abel, 1982, Colangelo et Jones, 1982), tako i kod eksperimentalnih životinja (Tze et Lee, 1975, Chernoff, 1980, Streissguth et al., 1980), budući da alkohol slobodno prolazi placentalnu barijeru i da njegova koncentracija u krvi fetusa dostiže onu u krvi majke (Streissguth et al., 1980). Grupa anomalija nastalih kod dece čije su majke tokom trudnoće pile alkohol označena je zajedničkim imenom fetalni alkoholni sindrom (FAS) (Jones et Smith, 1973). Jedna od najistaknutijih crta ovog sindroma jeste defektni razvoj centralnog nervnog sistema koji uključuje i duboku mentalnu retardaciju. Međutim, uprkos tome što su do danas ustanovljene brojne biohemijske, hormonalne i neurološke promene u FAS-u, mehanizam ovog teratogenog efekta etanola još uvek nije jasan. Uzimajući u obzir činjenicu da je za normalan razvoj i sazrevanje nervnog sistema neophodno prisustvo tireoidnih hormona i da njihov deficit za vreme kritičnih perioda u razvoju dovodi do permanentnih neuroloških oštećenja i oštećenja ponašanja, može se pretpostaviti da bi promene na nekom od nivoa hipotalamo-hipofizo-tireoidne osovine i majke i fetusa mogle biti, bar delimično, odgovorne za razvoj anomalija konstatovanih u FAS-u.

Dosadašnja ispitivanja u ovoj oblasti dosta su oskudna i ograničena uglavnom na određivanje statusa pojedinih tireoidnih hormona u hronično alkoholisanih majki (Portoles et al., 1988), a u pot-

¹ Prirodno-matematički fakultet, grupa Biologija, Podgorica.

² Institut za biologiju, Prirodno-matematički fakultet, Novi Sad.

³ Zavod za patologiju i histologiju, Medicinski fakultet, Novi Sad.

punosti nedostaju podaci o dejstvu etanola na citofiziologiju same tireoidne žlezde u ovih životinja; stoga je cilj ovoga rada bio da prikaže promene u tireoidnoj strukturi kod ženke pacova koje su mesec dana pre i tokom graviditeta kao i tokom laktacije pile 15% etanol kao jedinu ponuđenu tečnost.

Materijal i metode rada

Eksperiment je izveden na 13 polno zrelih ženki. Devet ženki je mesec dana pre sparivanja, kao i tokom graviditeta i laktacije pilo 15% etanol ad libitum, kao jedinu ponuđenu tečnost. Preostale četiri ženke su bile kontrolne i one su u navedenim periodima pile vodu. I oglednu i kontrolnu grupu činile su ženke koje su okotile isti broj mladunaca. Životinje obe grupe su žrtvovane 20 dana nakon okota. Tireoidne žlezde su fiksirane u Buinovoj tečnosti 24 sata kalupljene u idne žlezde su fiksirane u Buinovoj tečnosti 24 sata kalupljene u parafinu i sečene u serijske rezove debljine 4 μm koji su bojeni po Florentinovoj metodi. Svaki četvrti rez podvrgnut je svetlosno-mikroskopskoj i stereološkoj analizi. Stereološka analiza je urađena Weibl-ovim mnogonamenskim testnim sistemom M42 koji je intenponiran u okular uvećanja $\times 10$ i pri uvećanju objektiva $\times 63$. Od stereoloških parametara određena je volumenska gustina: folikularnog epitela (Vve), koloida (Vvk), interfolikularnog veziva (Vvi) i krvnih sudova (Vvs), a određen je i indeks aktivacije tireoidne žlezde (Ia) koji predstavlja količnih između Vve i Vvk i stoji u direktnom odnosu sa nivoom TSH u krvi (Kališnik, 1971).

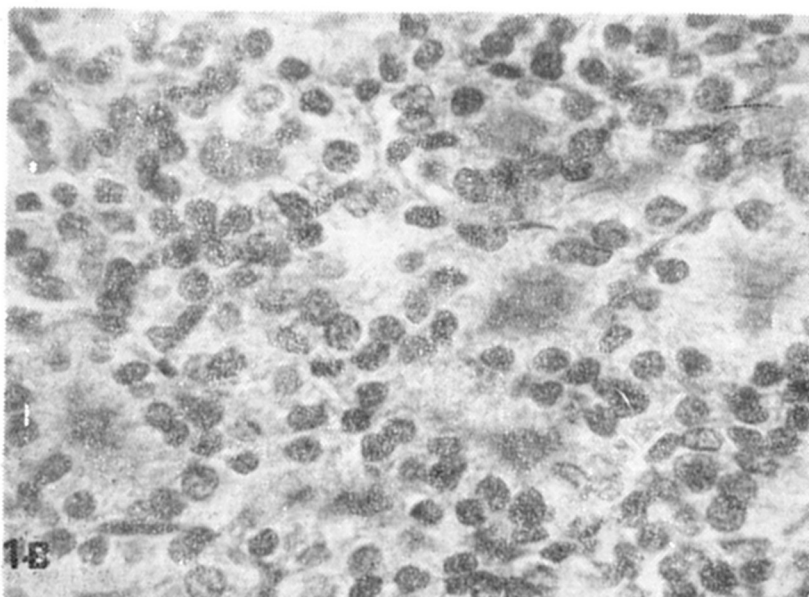
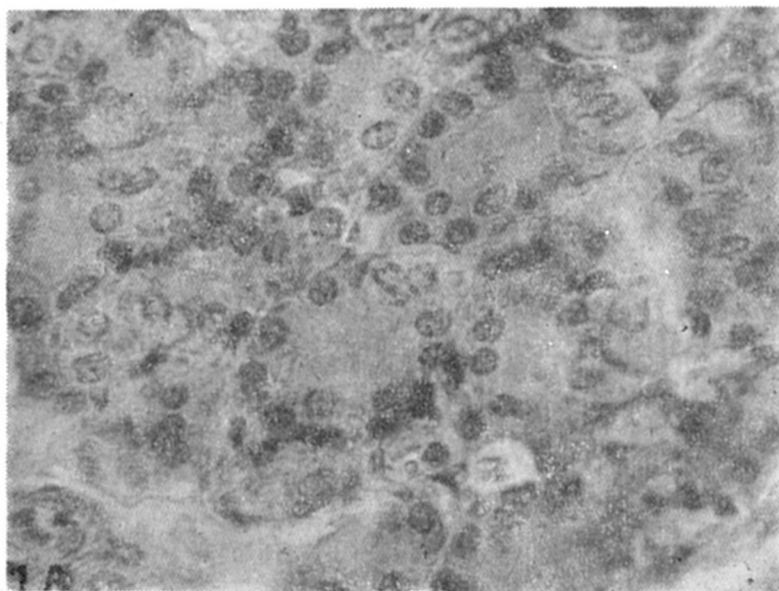
Signifikantnost razlika u vrednostima pojedinih stereoloških parametara dobijenih kod kontrolnih i eksperimentalnih životinja proverena je Student-ovim t-testom.

Rezultati

U strukturnom pogledu tireoidee alkoholisanih ženki u laktaciji pokazuju znake aktivacije. Povećana je visina folikularnog epitela, kao i broj koloidnih kapljica u njemu, dok je količina koloida u folikulima smanjena (sl. 1a, sl. 1b).

Apikalne membrane tireocita alkoholisanih »enki su ispućene i često snabdevene raznobličnim protruzijama, što ukazuje na intenzivan proces endocitoze u ovim ćelijama (sl. 2).

Rezultati stereoloških merenja pokazuju signifikantno smanjenje volumenske gustine koloida (Vvk) ($p < 0,001$) i signifikantno povećanje volumenske gustine epitela (Vve) ($p < 0,001$), kao i interfolikularnog veziva Vvi ($p < 0,001$), dok je volumenska gustina krvnih



Sl. 1. — Tireoidna žlezda ženke pacova, Bouin, Florentin, a) kontrolna ženka, b) alkoholisana ženka oc. 10, obj. 40.

sudova (Vvs) nesignifikantno povećana u odnosu na kontrolne »životinje (Fig. 1).

Veličina indeksa aktivacije tireoidne žlezde (I_a , $I_a = V_{ve}/V_{vk}$) pokazuje izražene individualne varijacije, tako da su 4 ženke reagovale izrazitim povećanjem ovog indeksa u odnosu na kontrolne ($p < 0,001$), dok je kod drugih 5 ženki njegovo povećanje takođe signifikantno, ali na nižem stepenu verovatnoće ($p < 0,05$). Zbog ovako izrazito velikih razlika, a i jasnog grupisanja rezultata oko dve vrednosti za ovaj indeks, komparirali smo ih sa kontrolnim životinjama kao dve razdvojene grupe (Fig. 2).

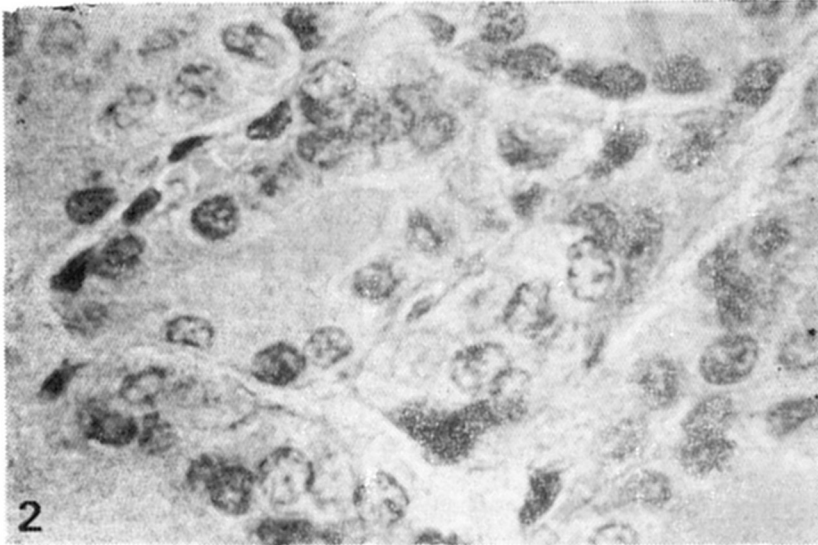
Diskusija

Histološkom i stereološkom analizom ustanovili smo da alkoholizacija ženki pacova pre i tokom graviditeta kao i tokom laktacije izaziva aktivaciju tireoidne žlezde.

Tireoidni hormonalni status gravidnih ženki normalno se karakteriše smanjenim nivoom tiroksina (T4) i trijodtironina (T3) u plazmi, ali povećanim nivoom tireostimulirajućeg hormona (TSH) (Kojima et al., 1974). Uzrok ovom hipotireoidizmu delom leži u smanjenom kapacitetu proteina plazme za vezivanje tireoidnih hormona, a delom i u placentalnom transferu materinskog T4 u fetus (Fukuda et al., 1974). Isto tako, ženke pacova su hipotireoidne i za vreme laktacije, uprkos činjenici da sisanje uzrokuje akutno povećanje nivoa TSH i prolaktina u plazmi (Blake et al., 1974). Smatra se da je glavni razlog ovom smanjenju nivoa T4 tokom laktacije upravo njegov gubitak preko mleka, što negativnom povratnom spregom uzrokuje konstantan porast nivoa TSH u plazmi tokom laktacije (Fukuda et al., 1974). Tako, s obzirom na niske koncentracije tireoidnih hormona u neonatalnih pacova, mleko može biti za ove životinje njihov značajan, dodatni izvor.

Ovde treba istaći i činjenicu da su veoma izražene individualne varijacije u nivou TSH u ženki pacova za vreme laktacije (Fakuda et al., 1980), što se svakako odrazilo i na variranje vrednosti indeksa aktivacije tireoidne žlezde u našim eksperimentalnim uslovima budući da on, kako je to već istaknuto, stoji u direktnoj korelaciji sa nivoom TSH u krvi. Ova vrijabilnost se naročito ispoljila u alkoholisanih životinja zbog čega je bilo neophodno grupisanje dobijenih vrednosti za ovaj parametar oko dve ekstremne vrednosti.

Hronična alkoholizacija izaziva u gravidnih ženki signifikantno smanjenje nivoa T4 i T3, a isto se dešava i u laktaciji (Portoles et al. 1988) Međutim, do danas se malo zna o mehanizmu delovanja alkohola na hipotalamo-hipofizo-tireoidnu osovinu (HHT). — premda u vezi sa tim postoji nekoliko pretpostavki. Prvo, alkohol može delovati direktno na sekreciju TRF iz hipotalamusa, kao i na sintezu i sekreciju TSH iz hipofize, ali i indirektno, menjajući



Sl .2. — Tireoidna žlezda ženke pacova nakon dugotrajne alkoholizacije. Bouin, Floranten, oc. 10, obj. imm.

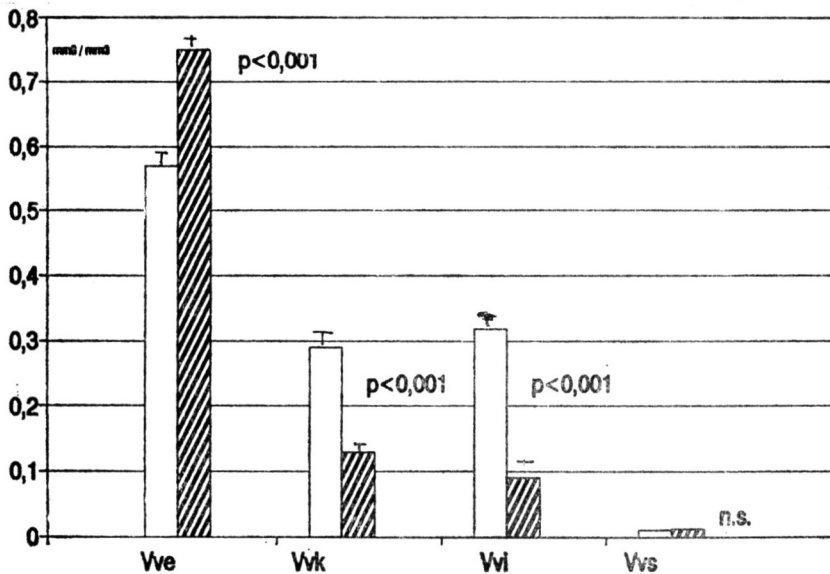


Fig. 1. -- Prosečna vrednost ($x \pm SE$ volumenske gustine epitela (Vve), koloida (Vvk), interfolikularnog veziva (Vvi) i krvnih sudova (Vvs) tireoidne žlezde kontrolnih i alkoholisanih ženki.

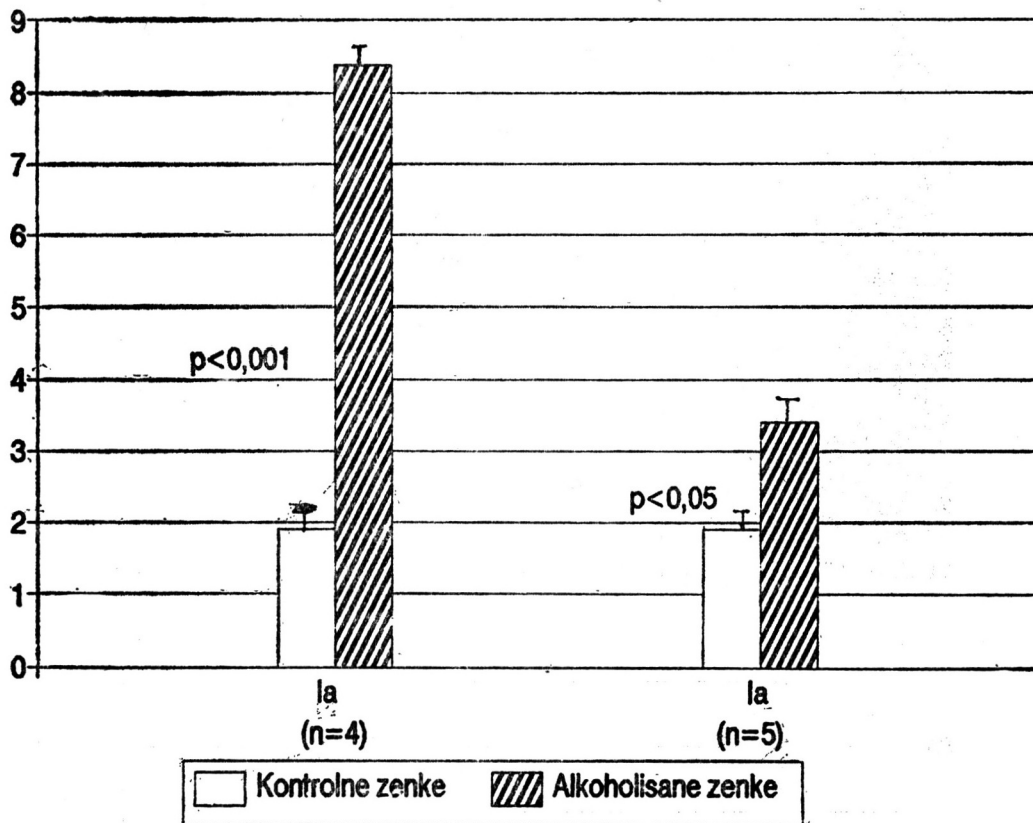


Fig. 2. — Prosečna vrednost ($\bar{x} \pm SE$) indeksa aktivacije (Ia) tireoidne žlezde kontrolnih i alkoholisanih ženki.

strukturu hipofiznih i tireoidnih receptora, jer alkohol menja fizičko-hemijske osobine ćelijske membrane (Guerra et Grisolia, 1982), uključujući tu i sinaptičke membrane (Guerra, 1986). Drugo, alkohol može interferirati sa sintetičkim kao i sa sekrecionim procesima u tireoidnoj žlezdi, kao što je pokazano kod odraslog pacova Prasad et al., 1984, Matavulj et al., 1992). Isto tako, etanol inhibiše konverziju T4 u T3 koja se dešava u jetri, mada je ovaj mehanizam malo verovatan kod neonatalnih pacova, jer je njihova hepatska enzimska aktivnost vrlo niska (Sato et al. 1984). Ovde je od posebnog značaja činjenica da fetalna tireoidna funkcija, kao i ekonomija tireoidnih hormona, nije potpuno nezavisna od tireoidnog statusa majke. Kako alkoholizacija ženki tokom graviditeta ima za posledicu smanjenje nivoa tireoidnih hormona, fetus se in utero nalazi u hipotireoidnim uslovima. Hipotireoidizam majki ima efekta na razvoj mozga (Calvo et al., 1990), metabolizam ugljenih hidrata, aminokiselina i lipida (Proterfield et Hendrich, 1976) i psihomotorni razvoj fetusa. Osim toga, on izaziva smanjenje telesne težine fetusa,

kao i smanjenje težine pojedinih organa jetre, mozga i pluća (Morreale de Escobar et al. 1985). Ove promene mogu biti trajne ili samo prolaznog karaktera, i nestaju kada tireoidna žlezda fetusa počne sa sopstvenom funkcijom, što se dešava poslednje trećine gestacije, tačnije od njenog 18. dana.

Na osnovu ovih činjenica i našeg nalaza morfoloških i morfometrijskih znakova povećane tireoidne aktivacije u ženki pod dejstvom etanola možemo zaključiti da u alkoholizaciji HHT osa najverovatnije ostaje funkcionalna i da kontinuirano povećanje TSH, koje se dešava u laktaciji uzrokuje stalnu stimulaciju žlezde, što pokazuju i njene strukturne i morfometrijske karakteristike koje smo opisali.

LITERATURA

1. Abel, El., (1982): *Consumption of alcohol during pregnancy: A review of effects on growth and development of off spring.* Human Biol. 54: 421—53.
2. Blake Ca (1974): *Stimulation of pituitary prolactin and TSH release in lactating and proestrous rat.* Endocrinology 94: 503—8.
3. Chernoff, Gf., (1982): *The fetal alcohol syndrome in mice: an animal model.* Teratology 15: 223—30.
4. Calvo, R., Obegon, Mj., Ruiz de Ona, C., Escobar del Rey, F., Morreale de Escobar, G., (1990): *Congenital hypothyroidism as studied in rats: crucial role of maternal thyroxine but not of 3', 3, 5 - triiodothyronine in the protect of the fetal brain.* J. clin invest 86: 889—99.
5. Colangelo, W., Jones, D. G. (1990): *The fetal alcohol syndrome: A Review and assesment of the syndrome and its neurological sequelae.* Prog. Neurobiol 19: 271—314.
6. Fakuda H., Ohshima, K., Mori, M., Kobayashi, Greer, Ma., (1980): *Sequential changes in the pituitary-thyroid axis during pregnancy and lactation in the rat.* Endocrinology 107: 1711—16.
7. Guerri, C., (1986): *Synaptic membrane alterations in rats exposed to alcohol.* Alcohol and Alcoholism 21: A46.
8. Guerri, C., Grisolia, S. (1982): *Effects prenatal and postnatal exposure of rats to alcohol: changes in (Na⁺K⁺) ATPase.* Pharmacol Biochem Behav 17: 927—32.
- Herrera, E., Bonet B. (1983): *Effect of maternal hypothyroidism during two phases of gestation on fetal growth and metabolic response to starvation in the rat.* Ann Endocrinol (Paris) 44: 17A.
10. Jones Kl., Smith Dw., (1973): *Recognition of the fetal alcohol syndrome in early infancy.* Lancet 2: 999—1001,
11. Kališnik M. (1970): *Histometric thyroid gland acyivation index (preliminary report).* J. Micr(oxford) 95: 345—48.
12. Kojima A., Hershman Jm. (1974): *Effect of thyrotropin-releasing hormone (TRH) in maternal, fetal and newborn rat.* Endocrinology 94: 1133—8
13. Matavulj M., Cecman M., Somer Lj. (1992): *Morphometrical changes in follicles of the thyroid glands in chronic alcoholism.* Acta Stereol 11/2: 199—204
14. Morreale de Escobar Gf., Pastor R., Obergon MJ., Escobar del Rey, F. (1985): *Effects of maternal hypothyroidism on the weight and thyroid hormone content of rat embryonic tissues, before and after onset of fetal thyroid function.* Endocrinology, 117: 1890—900.

15. Porterfield Sp., Hendrich Ce. (1976): *The effects of growth hormone treatment of thyroid-deficient pregnant rats on maternal and fetal carbohydrate metabolism.* Endocrinology, 99: 786—9.
16. Portolese M., Sanchis R., Guerri C. (1988): *Thyroid hormone levels in rat exposed to alcohol during development.* Horm Met Res. 20: 267—70
17. Prasad C., Mori H., Wilber Jf., Edvards Rm. (1984): *Chronic alcohol consumption alters hypothalamic-pituitary-thyroid axis regulation in rats,* Neuroendocrinol. Lett 6: 169—75
18. Sato K., Mimura H., Cholhan D., Tsushima T., Shiziuma K. (1984): *Ontogenesis of indothyrodine — 5' deiodinase induction of 5' deiodinating activity by insulin, glicocorticoid and thyroxine in cultured fetal mouse liver,* J. Clin Invest 74: 2254—62
19. Streissguth A., Landersman-Duyer S., Marttin Jc., Smith Dw. (1980): *Teratogenic effects of alcohol in humans and haboratory animals.* Science 209: 253—61
20. Tze Ej., Lee M. (1975): *Adverse effects of material alchol consumption in pregnancy and fetal growth in rats.* Nature 257: 479—80

Emilija Nenezić, Milica Matavulj, Josif Milin

STRUCTURAL CHANGES OF THYROID GLAND UNDER THE INFLUENCE OF THE ETHANOL IN LASTING RATS

Summary

Cytotologie and morphometric procedures were used to describe and to quantitate changes induced by ethanol in tissue components of female rat thyroid gland. Nine female rats were given 15% ethanol as only drinking solution daily one month before and during pregnancy and also during lactation. Control rats ($n = 4$) received tap mater.

Point counting was used to determine the volume density of epithelium (Vve), colloid (Vvc), interfollicular spaces (Vvi), capillary (Vvs) and index of activation of the thyroid gland (Ia , $Ia = Vve/Vvc$).

The most prominent cytological changes in the thyroid of the alcoholized females were higher follicular cells and appearance of variously shaped protrusions of the apical cell surface.

Stereological analysis showed a statistically significant increase in the Vve, Vi and Ia and significant reduction in Vvc in alcoholized animals.

The specific structural nad morphometrical alterations that we have described indicate that in this conditions function of the hypothalamic-pituitary-axis remained normal because lactation always induced activation of thyroid gland.

Sažetak

Za ispitivanje delovanja etanola na strukturne promene tireoidne žlezde ženke pacova izvršeno je citološkom i morfometrijskom procedurom. Devet ženki pacova je pilo 15%-tni etanol kao jedinu ponuđenu tečnost mesec dana pre i tokom graviditeta, kao i tokom laktacije. Kontrolne životinje ($n = 4$) su dobijale tekuću vodu.

Stereološkom metodom, brojanjem pogodaka odredili smo volmensku gustinu epitela (Vve), koloida (Vvk), interfolikularnog veziva (Vvi), kapilara (Vvs) i indeksa aktivacije tireoidne žlezde (Ia , $Ia = Vve/Vvk$),

Najistaknutija citološka promena u tireoideama alkoholisanih ženki je pojava viših folikularnih ćelija, kao i pojava raznoobličnih protruzija na njihovim apikalnim membranama.

Stereoolška analiza je pokazala statistički signifikantno povećanje Vve, Vvi i Ia , a signifikantno smanjenje Vvk u alkoholizovanih ženki.

Opisane specifične strukturne i morfometrijske promene ukazuju da alkoholizacija ženki dovodi do aktivacije tireoidne žlezde, što ukazuje na očuvanu hipotalamo-hipofizo-tireoidnu osu u ovim uslovima, jer je poznato da je normalno tireoidea u laktaciji aktivirana.

