

مطالعه ایمونوهیستوشیمیایی اثر هیپوتیروئیدی و هیپرتیروئیدی مادری در طی دوران بارداری و شیردهی، بر تکوین پوست نوزادان رت نژاد ویستار

مریم عامریون M.Sc.^{۱*}، زهرا هوشمند M.Sc.^۱، سمیه سادات تجددی M.Sc.^۱، ناصر مهدوی شهری Ph.D.^۱،
مهدی جلالی Ph.D.^۲، محمدرضا نیکروش Ph.D.^۲

۱- گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه فردوسی مشهد

۲- گروه آناتومی و بیولوژی سلولی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد

* پست الکترونیک نویسنده مسئول: m.amerion@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۰/۱۰/۱۰

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۰/۱۲/۲۳

چکیده

هدف: مطالعات نشان داده‌اند که هورمون‌های تیروئیدی لازمه تکامل طبیعی بسیاری از اندام‌های بدن محسوب می‌شوند. در این مطالعه سعی شده است با تکیه بر تکنیک ایمونوهیستوشیمی، به بررسی اثرات هیپوتیروئیدی مادری بر تکوین پوست جنین پرداخته شود.

مواد و روش‌ها: رت‌ها در چهار گروه هیپوتیروئید، هیپرتیروئید، هیپوتیروئید تیمار شده با تیروکسین و کنترل قرار گرفتند (هر گروه شامل ۱۰ رت). در این گروه‌ها، رت‌ها از ۱۴ روز قبل از جفت‌گیری به ترتیب در معرض داروهای ضدتیروئیدی پروپیل تیواوراسیل (PTU) و با دوز ۵۰ میلی‌گرم در هر لیتر آب آشامیدنی، داروی لووتیروکسین با دوز ۱ میلی‌گرم در لیتر و هر دوی این داروها به طور همزمان و با دوزهای ذکر شده قرار گرفتند. پس از ۱۴ روز از رت‌های مادر تست خون گرفته شد و در صورت تغییر مناسب سطح هورمونی آن‌ها، به همراه رت‌های نر به قفس‌های مخصوص جفت‌گیری منتقل شدند. پس از حاملگی و زایمان، از پوست ناحیه پشت نوزادان ۱۰ روزه جهت انجام مطالعات ایمونوهیستوشیمی نمونه برداری شد.

نتایج: در اکثر بخش‌های پوست، در گروه هیپوتیروئید افزایش معنی‌دار بیان لامینین ($p=0/002$) و در گروه هیپرتیروئید کاهش معنی‌دار بیان آن ($p=0/007$) مشاهده شد. همچنین در گروه هیپوتیروئید تیمار شده با تیروکسین نسبت به گروه کنترل تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد.

نتیجه‌گیری: هیپوتیروئیدی مادری باعث بروز تغییرات گسترده در بیان لامینین در بخش‌های مختلف پوست می‌شود. این در حالی است که هیپرتیروئیدی مادری باعث ایجاد نتایج عکس در بیان لامینین می‌شود. در واقع هورمون‌های تیروئیدی باعث تنظیم منفی بیان لامینین می‌شوند. بدین معنی که افزایش سطح هورمون‌های تیروئیدی باعث کاهش بیان لامینین می‌شود و برعکس. بنابراین تغییر در سطح هورمون‌های تیروئیدی مادری، می‌تواند باعث ایجاد تغییرات گسترده‌ای در پوست نوزاد شود.

واژگان کلیدی: لامینین، ناهنجاری‌های تیروئیدی مادرزادی، تکوین پوست، ایمونوهیستوشیمی

مقدمه

مواد و روش‌ها

از آنجا که هورمون‌های تیروئیدی نقش کلیدی در تکامل سیستم‌های مختلف در حال تکامل دارند، هیپوتیروئیدی مادری در دوران بارداری پدیده دریافت هورمون‌های تیروئیدی را که باید از مادر و از طریق سد جفتی-رحمی به جنین برسند، دچار مشکل نموده و نقایص تکاملی انکار ناپذیری بر سیستم عصبی جنین‌های آن‌ها ایجاد خواهد نمود. از آنجا که این نقایص صرفاً به سیستم عصبی محدود نگردیده و سایر ارگان‌ها را نیز کم و بیش ممکن است تحت تاثیر قرار دهد، در این مطالعه نقش هورمون‌های تیروئیدی بر تکامل پوست مورد ملاحظه قرار خواهد گرفت. از سوی دیگر در ساختار لایه‌های درم و اپیدرم پروتئین‌های متعددی ایفای نقش می‌کنند که لامینین یکی از آن‌هاست. اهمیت این پروتئین در ساختار پوست آن چنان مهم است که تغییرات تکاملی حاصل از نقایص ژنتیکی یا ترشحات هورمونی یا هر عامل دیگری که بیان ژن‌های کد کننده‌ی مربوط به آن را با اشکال مواجه کند، می‌تواند ساختار پوست را به لحاظ ترکیب و شکل گیری ضمایم پوستی دچار مشکل نماید. در این پژوهش سعی شده است تا با استفاده از ردیابی لامینین در ماده‌ی خارج سلولی لایه‌های یاد شده و همچنین در ساختار غشای پایه، به شدت بیان آن، به عنوان یک ابزار مطالعه نگاه شود. از سوی دیگر با مطالعه مورفومتریک و تعیین تراکم فولیکول‌های مو و همچنین ضخامت لایه‌های پوستی یاد شده بر اساس پارامترهای بدست آمده از مطالعات میکروسکوپی سه بعدی (استریولوژی) چنین تغییراتی نیز مورد ثبت و بررسی قرار گیرد. از آنجا که ماتریکس خارج سلولی و ساختار غشای پایه در هر یک از بافت‌های بدن اساس شکل گیری بافت و زمینه پیدایش سلولی رده‌های مختلف و تامین و تضمین کننده‌ی فعالیت‌های حیاتی آن‌هاست، هر گونه تغییری در ساختمان این گونه اجزای موجود زنده می‌تواند ساختمان و عملکرد بافت‌های مربوط به آن را دستخوش تغییر نماید. بنابراین اگرچه در مقایسه با سایر جنبه‌های هیپوتیروئیدی، در ارتباط با اثرات آن بر تغییرات احتمالی هیستوژنز لایه‌های پوستی، مطالعه‌ی چندانی در دست نیست، اما با توجه به گزارشات معدودی که وجود دارد، بررسی این موضوع از دو دیدگاه دقیق مطالعه ایمونوهیستوشیمیایی (ردیابی مولکول لامینین) و تکنیک‌های مورفومتریک خواهد توانست به نتایجی منجر شود که تا کنون در این زمینه گزارش نگردیده است.

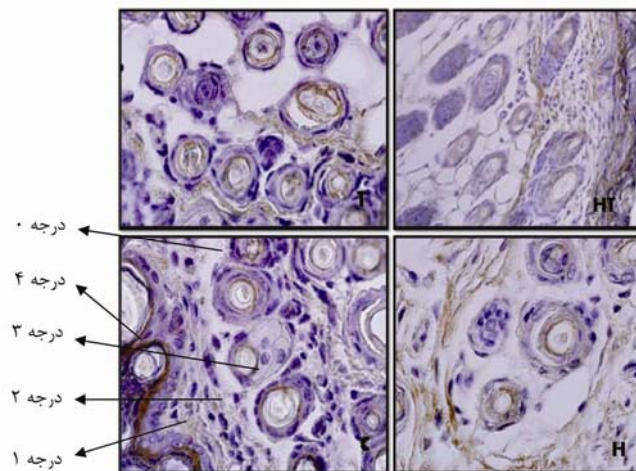
مطالعه حاضر یک مطالعه تجربی و از نوع بنیادی است. در این مطالعه از رت‌های باکره نژاد ویستار با در نظر گرفتن ملاحظات اخلاقی استفاده گردید (حیوانات در شرایط استاندارد خانه حیوانات با دمای مناسب و آب آشامیدنی و غذای کافی تحت مراقبت بوده و پرفیوژن بطنی و نمونه برداری تحت بیهوشی عمیق انجام می‌گرفت). ۴۰ رت در چهار گروه هیپوتیروئید، هیپرتیروئید، هیپوتیروئید تیمار شده با تیروکسین و کنترل قرار گرفتند (۱۰ رت در هر گروه). رت‌ها از حیوان خانه دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی مشهد تهیه شدند. شرایط محیطی برای همه‌ی رت‌ها یکسان بود (دمای ۲۳ تا ۲۵ درجه سانتی‌گراد و ۱۲ ساعت روشنایی، ۱۲ ساعت تاریکی). رت‌ها در هر یک از گروه‌های هیپوتیروئید، هیپرتیروئید و هیپوتیروئید تیمار شده با تیروکسین، از ۱۴ روز قبل از جفت گیری، به ترتیب در معرض داروی ضد تیروئیدی پروپیل تیواوراسیل (PTU) (ساخت شرکت ایران دارو) و با دوز ۵۰ میلی گرم در هر لیتر آب آشامیدنی، داروی لووتیروکسین (ساخت شرکت ایران دارو) و با دوز ۱ میلی گرم در لیتر و هر دوی این داروها به طور هم زمان و با دوزهای ذکر شده قرار گرفتند. در روز ۱۴، از ورید چشمی رت‌های مادر تست خون گرفته شد و در صورت حصول اطمینان از کاهش سطح هورمون‌های تیروئیدی در گروه هیپوتیروئید و افزایش سطح آن‌ها در گروه هیپرتیروئید و عدم تغییر آن‌ها در گروه هیپوتیروئید تیمار شده با تیروکسین، به رت‌های مادر اجازه جفت گیری داده شد. پس از زایمان، نوزادان در روز دهم پس از تولد از مادران جدا شدند و پس از بیهوشی با اتر، به نوزادان به روش تزریق بطنی پارافرمالدئید ۴ درصد تزریق شد و سپس از پوست ناحیه پشت آن‌ها نمونه برداری شد. نمونه‌ها به مدت ۴۸ ساعت در دمای اتاق، در محلول پارافرمالدئید ۴ درصد فیکس شدند و پس از انجام مراحل بافت شناسی و قالب گیری، از نمونه‌ها برش‌های سریال ۵ میکرونی، تهیه شد. از هر ۱۰ برش یک لام انتخاب شد. نمونه‌ها پس از پارافین زدایی و آبدهی، به مدت ۱۰ دقیقه، در تریتون X100 و سپس به مدت ۲ ساعت در معرض آنتی بادی laminin alpha, anti body mouse anti rabbit (polyclonal) (ساخت شرکت abcan شماره ab7534) قرار گرفتند. پس از شستشو با بافر PBS، نمونه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه در معرض دی آمینوبنزدین قرار گرفتند و پس از شستشوی مجدد با بافر PBS به مدت ۱۰ دقیقه، نمونه‌ها

نتایج

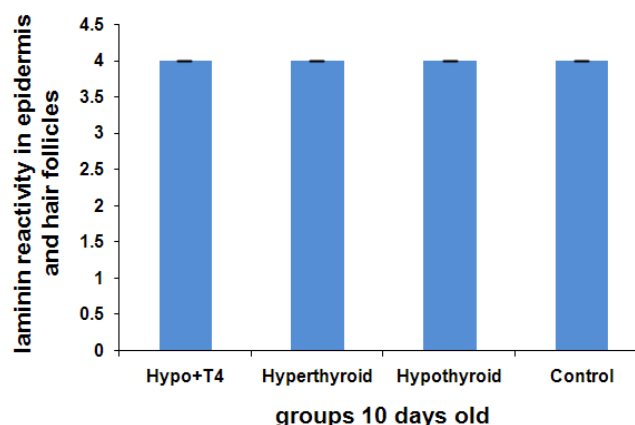
در این بررسی بیان لامینین در بخش‌های مختلف پوست مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که در فولیکول‌های موی نوزادان ۱۰ روزه، بیان لامینین در گروه‌های هیپوتیروئید، هیپرتیروئید و هیپوتیروئید تیمار شده با تیروکسین نسبت به گروه کنترل تفاوت معنی‌داری را نشان نداد (شکل ۱ و نمودار ۱). بیان لامینین در لایه‌های مختلف اپی‌درم در لایه استراتوم کورنئوم، در همه گروه‌های نوزادان ۱۰ روزه نسبت به گروه کنترل تفاوت معنی‌داری نشان نداد (شکل ۲ و نمودار ۱). اما در سایر لایه‌های اپی‌درم، در نوزادان ۱۰ روزه افزایش معنی‌دار بیان لامینین در گروه هیپوتیروئید نسبت به گروه کنترل مشاهده شد ($p=0/002$) و در سایر گروه‌ها تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (شکل ۲ و نمودار ۲).

توسط رنگ همتاکسیلین رنگ آمیزی شدند و سرانجام با چسب انتلان به لام چسبانده شدند. بسته به میزان بیان لامینین در بخش‌های مختلف پوست، نمونه‌ها نسبت به آنتی‌بادی آنتی لامینین واکنش رنگی مثبت، از قهوه‌ای روشن تا تیره نشان می‌دهند. بنابراین پس از عکس برداری از لام‌ها توسط میکروسکوپ دوربین دار، با استفاده از روش گانگ (۱، ۲ و ۳) و جهت تبدیل اطلاعات کیفی به اطلاعات کمی، به این رنگ پذیری، با توجه به شدت آن در بخش‌های مختلف پوست، درجه صفر تا ۴ داده شد.

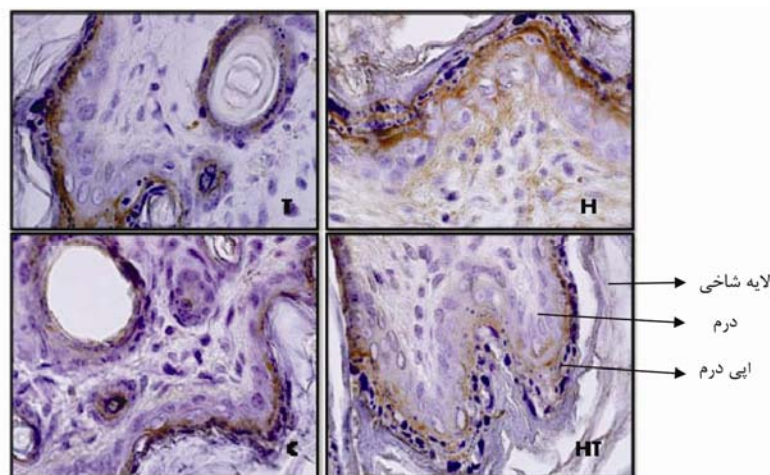
در این بررسی، جهت آنالیزهای آماری، از نرم افزار SPSS16 و تست‌های کروسکال والیس و من ویتنی، جهت بررسی داده‌های حاصل از مطالعات ایمونوهیستوشیمی استفاده شد.



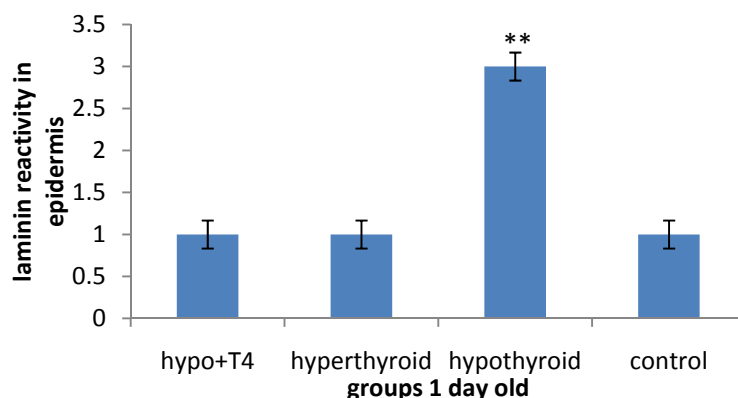
شکل ۱: فولیکول‌های موی رنگ آمیزی شده با تکنیک ایمونوهیستوشیمی در نوزادان ۱۰ روزه (درشت نمایی $100\times$). بیان لامینین در فولیکول‌های مو در چهار گروه کنترل (C)، هیپوتیروئید (H)، هیپرتیروئید (T) و هیپوتیروئید تیمار شده با تیروکسین (HT) تفاوت قابل ملاحظه‌ای را نشان نداد. گرید بندی براساس روش گانگ براساس درجه رنگ پذیری از ۰ تا ۴



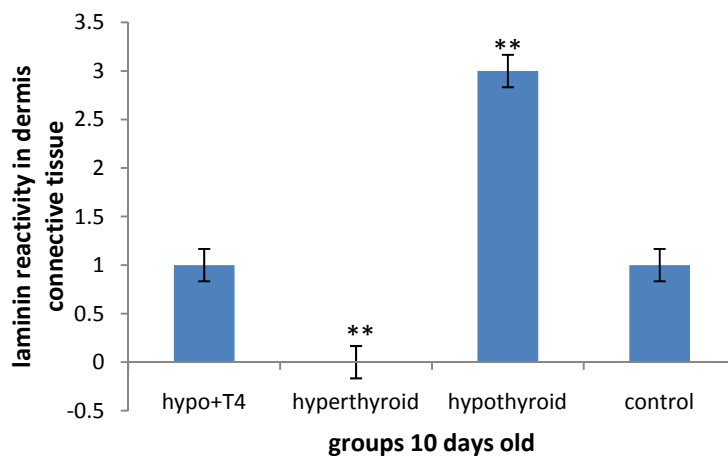
نمودار ۱: بررسی تغییرات بیان لامینین در اپی‌درم و فولیکول‌های مو (میانگین $\pm$ انحراف استاندارد: 4 ± 0). بیان لامینین در لایه استراتوم کورنئوم اپی‌درم و فولیکول‌های مو در هیچ یک گروه‌ها و در نوزادان ۱۰ روزه نسبت به گروه کنترل تفاوت معنی‌داری را نشان نداد. در گروه Hypo+T4 نیز نسبت به گروه کنترل تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد.



شکل ۲: رنگ آمیزی اختصاصی ایمونوهیستوشیمی ناحیه اپی درم و درم در نوزادان ۱۰ روزه (درشت نمایی ۱۰×). بیان لامینین در همه لایه‌های اپی درم به جز لایه استراتوم کورنئوم، افزایش قابل ملاحظه‌ای را در گروه هیپوتیروئید (H) نسبت به گروه کنترل (C) نشان داد، در حالی که در گروه هیپرتیروئید (I) تفاوت قابل ملاحظه‌ای مشاهده نشد. همچنین در گروه هیپوتیروئید تیمار شده با لووتیروکسین (HT) نیز نسبت به گروه کنترل تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد.



نمودار ۲: بررسی تغییرات بیان لامینین در اپی درم (۱/۰/۰۱) (**P < ۰/۰۰۱) (میانگین ± انحراف استاندارد: ۱/۵ ± ۱/۴۴). بیان لامینین در دیگر لایه‌های اپی درم نوزادان ۱۰ روزه، افزایش معنی‌داری را در گروه هیپوتیروئید نسبت به گروه کنترل نشان نداد، در حالی که در گروه هیپرتیروئید نسبت به گروه کنترل تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. در گروه Hypo+T4 نیز نسبت به گروه کنترل تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد.



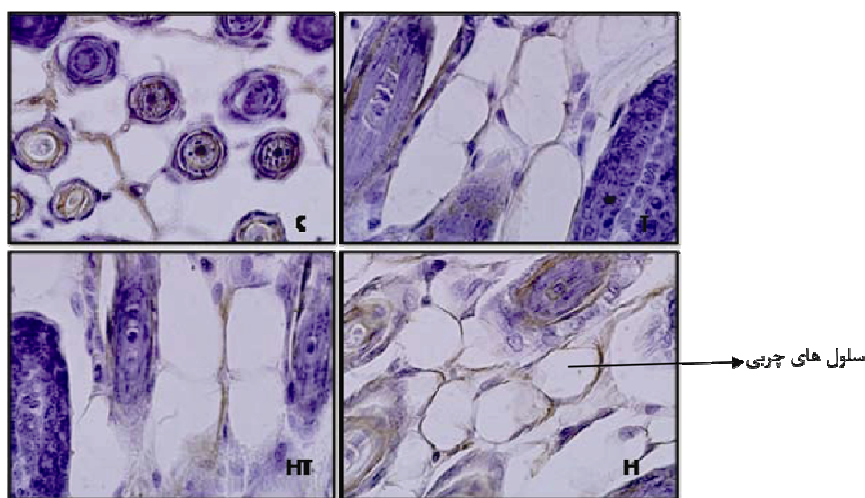
نمودار ۳: بررسی تغییرات بیان لامینین در بافت همبند درم (۱/۰/۰۱) (**P < ۰/۰۰۱) (میانگین ± انحراف استاندارد: ۲ ± ۱/۷۷). بیان لامینین در بافت همبند درم نوزادان ۱۰ روزه، در گروه هیپوتیروئید نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌دار و در گروه هیپرتیروئید کاهش معنی‌داری را نسبت به گروه کنترل نشان نداد. در گروه Hypo+T4 نیز نسبت به گروه کنترل تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد.

کنترل کاهش معنی‌دار بیان لامینین ($p=0/001$) مشاهده شد (شکل ۳ و نمودار ۴).

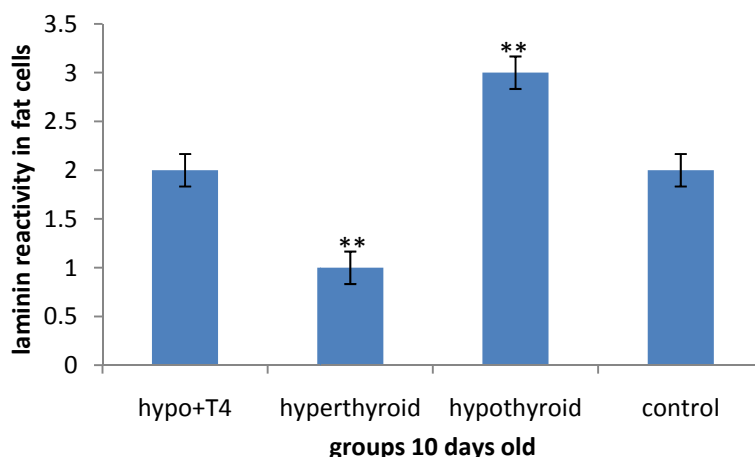
بررسی بیان لامینین در بافت چربی در گروه نوزادان ۱۰ روزه، در گروه هیپوتیروئید نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌دار ($p=0/001$) و در گروه هیپرتیروئید نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌داری را نشان داد ($p=0/001$) (شکل ۳ و نمودار ۴). بیان لامینین در گروه هیپوتیروئید تیمار شده با تیروکسین نسبت به گروه کنترل، هم در ناحیه هیپودرم و هم در سلول‌های چربی، تفاوت معنی‌داری را نشان نداد.

بررسی بیان لامینین در بافت همبند درم که در گروه نوزادان ۱۰ روزه در گروه هیپوتیروئید نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌دار ($p=0/007$) و در گروه هیپرتیروئید نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌داری را نشان داد ($p=0/002$) (شکل ۲ و نمودار ۳). این در حالی است که بیان لامینین در گروه هیپوتیروئید تیمار شده با تیروکسین نسبت به گروه کنترل تفاوت معنی‌داری را نشان نداد.

بیان لامینین در بافت همبند هیپودرم در گروه نوزادان ۱۰ روزه در گروه هیپوتیروئید نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌دار بیان لامینین ($p=0.001$) و در هیپرتیروئید نسبت به گروه



شکل ۳: سلول‌های چربی رنگ‌آمیزی شده با تکنیک ایمونوهیستوشیمی در نوزادان ۱۰ روزه (درشت‌نمایی $10\times$). بیان لامینین در سلول‌های چربی، در گروه هیپوتیروئید (H) نسبت به گروه کنترل (C) افزایش قابل ملاحظه‌ای و در گروه هیپرتیروئید (T) کاهش قابل ملاحظه‌ای را نشان داد. همچنین در گروه هیپوتیروئید تیمار شده با لووتیروکسین (HT) نیز نسبت به گروه کنترل تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد.



نمودار ۴: بررسی تغییرات بیان لامینین در سلول‌های چربی و بافت همبند هیپودرم ($**P < 0/01$) (میانگین $\pm$ انحراف استاندارد: $2 \pm 1/44$). بیان لامینین در سلول‌های چربی نوزادان ۱۰ روزه، در گروه هیپوتیروئید نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌دار و در گروه هیپرتیروئید نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌داری را نشان داد. در گروه Hypo+T4 نیز نسبت به گروه کنترل تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد.

بحث

مطالعات اخیر نشان داده‌اند که رسپتور هورمون‌های تیروئیدی در بخش‌های مختلف پوست حضور دارند. از سوی دیگر هورمون‌های تیروئیدی بر بیان لامینین تاثیر گذار می‌باشند (۱۳-۴). از این رو با توجه به اثرات گسترده‌ی هورمون‌های تیروئیدی در تکوین اندام‌های مختلف و با توجه به این که پوست بزرگ‌ترین و مهم‌ترین ارگان بدن در حفظ بدن در برابر آسیب‌های خارجی است، در این مطالعه سعی شده است به بررسی اثر هورمون‌های تیروئیدی مادری در دوران بارداری و شیردهی، بر تکوین پوست جنین پرداخته شود. در این مطالعه با تکیه بر تکنیک ایمنو هیستوشیمی سعی شده است به بررسی تغییرات لامینین در قسمت‌های مختلف پوست، در نوزادانی که مادران آن‌ها در معرض مقادیر متفاوت هورمون‌های تیروئیدی قرار گرفته‌اند، پرداخته شود.

تغییرات بیان لامینین در فولیکول‌های مو:

مقایسه تغییرات بیان لامینین در فولیکول‌های مو، بین چهار گروه کنترل، هیپوتیروئید، هیپرتیروئید و هیپوتیروئید تیمار شده با تیروکسین، تفاوت معنی‌داری را در نوزادان ۱۰ روزه نشان نداد. از آنجا که براساس بررسی‌های انجام شده، بیان لامینین و به ویژه لامینین ۱۰ و همچنین، حضور هورمون‌های تیروئیدی برای بقای مو ضروری است (۱۴ و ۱۵)، می‌توان این چنین استنباط کرد که تغییر سطح هورمون‌های تیروئیدی در دوران بارداری و به دنبال آن، دوران ۱۰ روزه‌ی شیردهی بر بیان لامینین در فولیکول‌های موی نوزادان تاثیری ندارد. همچنین بیان لامینین در فولیکول‌های مو در نوزادان ۱۰ روزه در دو گروه کنترل و هیپوتیروئید تیمار شده با تیروکسین تفاوت معنی‌داری را نشان نداد که نشان‌دهنده‌ی این است که هورمون تیروکسین جایگزین خوبی برای درمان افراد هیپوتیروئید و بازگرداندن آن‌ها به حالت طبیعی می‌باشد.

تغییرات بیان لامینین در اپی‌درم و بافت همبند درم:

در مطالعات اخیر نشان داده‌اند که مهم‌ترین عملکرد غشای پایه برقراری ارتباط محکم اپی‌درم به درم است. غشای پایه در محل اتصال درم-اپی‌درم باعث انتقال انتخابی سیگنال‌هایی می‌شود که جهت حفظ پوست نرمال، لازم و ضروری هستند. یکی از ترکیبات کلیدی غشای پایه در این محل، لامینین ۵ است. در واقع بررسی‌ها نشان داده‌اند که لامینین ۵ فاکتور اصلی در حفظ

ثبات درمی-اپی‌درمی می‌باشد (۱۶). از سوی دیگر، هورمون T3 سنتز لیپیدهای اپی‌درمی را تحریک می‌کند که سنتز این لیپیدها برای تشکیل یک لایه شاخی نرمال مورد نیاز هستند (۱۴). علاوه بر این، هورمون‌های تیروئیدی از طریق گرانول‌های لاملار، نقش تنظیم‌کننده‌ی مهمی را بر این لایه از اپی‌درم اعمال می‌کنند که برای ایجاد یک لایه شاخی نرمال ضروری می‌باشند (۱۷). همچنین حضور هورمون T3 باعث افزایش تعداد رسپتورهای فاکتور رشد اپی‌درمی (EGF) در پوست می‌شود که نقش مهمی را در رشد اپی‌درمی ایفا می‌کنند (۱۷ و ۱۸). نمودارها و نتایج حاصل از آنالیزهای آماری در پژوهش حاضر، در رابطه با بیان لامینین در اپی‌درم نشان داد که هیچ تفاوت معنی‌داری در بیان لامینین در لایه شاخی اپی‌درم، در نوزادان ۱۰ روزه بین چهار گروه مورد نظر وجود ندارد که می‌تواند نشان‌دهنده‌ی این موضوع باشد که تغییر میزان هورمون‌های تیروئیدی در این گروه‌ها در دوران بارداری و شیردهی، تاثیری بر بیان لامینین در لایه‌ی شاخی اپی‌درم نوزادان نداشته است و در واقع این لایه از اپی‌درم به تغییرات غلظت هورمون‌های تیروئیدی حساس نمی‌باشد.

در ارتباط با بیان لامینین در کل اپی‌درم، مطالعات بسیاری پیشنهاد می‌کنند که رسپتورهای اینترگرینی لامینین در اپی‌درم و نواحی کوچکی از درم به مقادیر بالا حضور دارند (۱۹). همچنین مطالعات دیگری نشان داده‌اند که هورمون‌های تیروئیدی باعث تغییر در شاخی شدن و لیپوژنز پوست می‌شود. کاهش سنتز کلاسترول و استرهای آن نیز، در اپی‌درم افراد هیپوتیروئید مشاهده می‌شود. در واقع نشان داده شده است که بلوغ اپی‌درمی به دنبال توزیع مناسب هورمون‌های تیروئیدی و در حضور سطوح بافتی مناسبی از فاکتور رشد اپی‌درمی روی می‌دهد (۱۷).

با توجه به مطالعات انجام گرفته توسط سایر محققان و اثبات حضور لامینین در اپی‌درم و تاثیر هورمون‌های تیروئیدی بر آن، نمودارها و آنالیزهای آماری در پژوهش حاضر نشان داد که در نوزادان ۱۰ روزه، بیان لامینین در گروه هیپوتیروئید نسبت به گروه کنترل افزایش قابل توجهی داشت. اما در گروه هیپرتیروئید نسبت به گروه کنترل تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد، که این افزایش بیان لامینین در گروه هیپوتیروئید می‌تواند ناشی از تنظیم منفی بیان لامینین توسط هورمون‌های تیروئیدی در دروان بارداری و شیردهی باشد. در حالی که این ناحیه از پوست،

احتمالا نسبت به افزایش سطح هورمون های تیروئیدی بی تفاوت است.

در ارتباط با اثر هورمون های تیروئیدی در درم، مطالعات نشان داده اند که با بروز هیپوتیروئیدی، افزایش رسوب آب و موکوپلی ساکاریدها در درم مشاهده می شود که می تواند باعث تغییر در انعکاس نور و در نتیجه ایجاد پوستی زرد رنگ شود (۲۰ و ۱۷). همچنین محققان نشان داده اند که بسیاری از رسپتورهای هورمون های تیروئیدی در درم، ناحیه زیر اپی درم و یا نزدیک به هیپودرم حضور دارند که نشان دهنده ی تاثیرگذاری وسیع هورمون های تیروئیدی بر این نواحی می باشد (۲۰). نتایج حاصل از بررسی تاثیر هورمون های تیروئیدی بر بیان لامینین در بافت همبند درم، نشان داد که در نوزادان ۱۰ روزه، بیان لامینین در این ناحیه، در گروه هیپوتیروئید نسبت به گروه کنترل افزایش معنی دار و در گروه هیپرتیروئید نسبت به گروه کنترل کاهش معنی داری را نشان می دهد که نشان دهنده ی تنظیم منفی بیان لامینین توسط هورمون های تیروئیدی در این ناحیه و تاثیر قابل توجه تغییرات سطح هورمون های تیروئیدی مادری بر بیان لامینین در این ناحیه از پوست می باشد.

تغییرات بیان لامینین در سلول های چربی و بافت همبند هیپودرم:

در ارتباط با اثر هورمون های تیروئیدی بر هیپودرم و بافت چربی، مطالعات نشان داده اند که در رت های هیپوتیروئید، سلول های چربی برخلاف این که دارای یک حالت رسپتور-کاتکول آمینی نرمال هستند، فاقد پاسخ های لیپولیتیک نرمال به کاتکول آمین ها هستند و در جوجه های هیپوتیروئید فاقد پاسخ های لیپولیتیک نرمال به گلوکاگون هستند (۲۱ و ۲۲). در بررسی دیگری نشان داده شد که سرعت فعالیت فسفودی استراز در بافت چربی توسط هورمون های تیروئیدی تعیین می شود (۲۳). در مطالعه دیگری محققان نشان دادند که ۶ هفته پس از برداشتن غده تیروئید، قطر و تعداد سلول های چربی ۸۶ درصد و ۳۲ درصد مقادیر موجود در حالت کنترل است. در رت هایی که هورمون های تیروئیدی دریافت کردند، هیپرتروفی سلول های چربی به طور یکسان با زمان کند شده، همچنین هیپرپلازی آن ها تا دو هفته کند شده و پس از آن به صفر می رسد (۲۴). با توجه به مطالعات انجام گرفته و بررسی نقش هورمون های تیروئیدی بر هیپودرم و بافت چربی، در پژوهش حاضر به بررسی تغییرات بیان لامینین در بافت همبند هیپودرم پرداخته شد.

نمودارهای موجود نشان داد که در نوزادان ۱۰ روزه، تفاوت معنی داری در بیان لامینین در گروه هیپوتیروئید نسبت به گروه کنترل مشاهده نشد. در حالی که بیان لامینین، در گروه هیپرتیروئید نسبت به گروه کنترل، کاهش معنی داری را نشان داد که می تواند نشان دهنده تنظیم منفی بیان لامینین توسط هورمون های تیروئیدی در این ناحیه از پوست باشد. این در حالی است که، بررسی دیگری مبنی بر اثر هورمون های تیروئیدی بر بیان لامینین در بافت همبند هیپودرم انجام نشده است. در ارتباط با سلول های چربی و بیان لامینین در آن ها، همانطور که نمودارها و آنالیزهای آماری نشان داد، در گروه هیپوتیروئید نسبت به گروه کنترل، در نوزادان ۱۰ روزه افزایش معنی داری در بیان لامینین مشاهده شد. در حالی که در گروه هیپرتیروئید نسبت به گروه کنترل، بیان لامینین در نوزادان ۱۰ روزه کاهش معنی داری را نشان داد.

نتیجه گیری

از آنجا که در اکثر بخش های پوست، هیپوتیروئیدی باعث افزایش بیان لامینین و هیپرتیروئیدی باعث کاهش بیان آن شده است، می توان این چنین استنباط کرد که هورمون های تیروئیدی در پوست باعث تنظیم منفی بیان لامینین می شوند، به طوری که افزایش سطح هورمون های تیروئیدی باعث کاهش بیان لامینین می شود و برعکس. بنابراین از آنجا که کمبود لامینین نوعی نقص است، با توجه به نتایج حاصل از این پژوهش، هیپوتیروئیدی باعث افزایش بیان لامینین می شود که عملکردی مثبت است. تا کنون مطالعه ای مبنی بر اثر تغییرات سطح هورمون های تیروئیدی بر بیان لامینین، که یکی از مهم ترین عناصر تشکیل دهنده ی غشای پایه است، انجام نشده است. با توجه به نتایج حاصل، می توان چنین استنباط کرد که بروز اختلالات تیروئیدی در مادر و در دوران بارداری و شیردهی، می تواند باعث تغییرات قابل توجه در بیان لامینین، که از مهمترین پروتئین های ماتریکس خارج سلولی است، شده و بنابراین بر تکوین پوست اثرات قابل ملاحظه داشته باشد.

تشکر و قدردانی

بر خود لازم می دانم در این پژوهش از مساعدت و همفکری اساتید محترم راهنما و اساتید مشاور و خدمات تکنیکی تکنیسین های آزمایشگاه های تخصصی بافت شناسی دانشکده پزشکی مشهد و دانشکده علوم دانشگاه فردوسی و همچنین از

13. Friesema EC. Thyroid hormone transporters. *Vitamins and hormones*. 2005; 70: 137–167.
14. Billoni N, Buan B, Gautier B, Gaillard O, et al. Thyroid hormone receptor *b1* is expressed in the human hair follicle. *BJD*. 2000; 142: 645–652.
15. Li J, Tzu J, Chen Y, Zhang Y, et al. Laminin-10 is crucial for hair morphogenesis. *J EMBO*. 2003; 22: 2400-2410.
16. Safer J, Fraser L, Ray S, Holick M. Topical Triiodothyronine Stimulates Epidermal Proliferation, Dermal Thickening, and Hair Growth in Mice and Rats. *J Thyroid*. 2006; 11: 356-364.
17. Heymann, W. *Thyroid Disorders with Cutaneous Manifestations*. 1th Ed. 2008.
18. Hanley K, Devaskar UP, Hicks SJ, Jiang Y, et al. Hypothyroidism delays fetal stratum corneum development in mice. *J of pediatric*. 1997; 42(5): 610-614.
19. Gawlik K, Durbeek M. Skeletal muscle laminin and MDC1A: pathogenesis and treatment strategies. *Skeletal Muscle*. 2011; 1: 1-13.
20. Daumerie C, Ludgate M, Costagliola S, Many MC. Evidence for thyrotropin receptor immunoreactivity in pretibial connective tissue from patients with thyroid-associated dermopathy. *EJE*. 2008; 146: 35-38.
21. Ohisalo JJ, Stoneham S, Keso L. Thyroid status and adenosine content of adipose tissue. *J Biochemistry*. 1987; 246: 555-557.
22. Gandarias JM, Galdiz B, Fernandez BM. Effects of thyroid hormone deficiency on lipolysis in chicken fat cells. *J Comparative Biochemistry and Physiology*. 2000; 77: 385-386.
23. Engfeldt P, arner P, bolinder J, wennlund A, et al. Phosphodiesterase Activity in Human Subcutaneous Adipose Tissue in Hyper- and Hypothyroidism. *JCEM*. 2001; 54(3): 625-629.
24. Robert M, Herrera E. Effect of postweaning thyroid status on endocrine and adipose development in rats. *J APS*. 1988; 255(2): 280-286.

همکاری خانه حیوانات دانشکده پزشکی و گروه فیزیولوژی علوم که به پیشرفت این پروژه کمک نموده اند، کمال تشکر و قدردانی را به عمل آورم.

منابع

1. Jalali M, Nikraves MR, Moeen AA, Mohammadi Sh, et al. Maternal Nexposure on Collagen Type IV Pulmonary Changes in Mouse Offspring's. *J Iranian Anatomical Sciences*. 2010; 8: 139-147.
2. Nikraves MR, Moeen AA, Jalali M, Mohammadi S, et al. Maternal nicotine induces collagen type IV changes and its role on pulmonary bronchogenesis and alveolarization in mouse newborns. *J Pharmaceutical Sciences*. 2010; 16(3): 181-186.
3. Gong H, Ye W, Freddo TF, Hernandez MR. Hyaluronic acid in the normal and glaucomatous optic nerve, *Exp Eye Res*. 1997; 64:587-595.
4. Quatresooz P, Thirion L, Piérard-Franchimont C, Piérard GE. Cutaneous manifestations of endocrine disorders. *Revue Medicale Liège*. 2006; 61: 104–108.
5. Slominski A. Neuroendocrine sytem of the skin. *J Dermatology*. 2005; 211: 199–208.
6. Kimura-Kuroda J, Nagata IN, Negishi-Kato M, Kuroda Y. Thyroid hormone-dependent development of mouse cerebellar Purkinje cells in vitro. *J Brain Resarch and Developmaenatal Brain Research*. 2007; 137: 55-65.
7. Koibuchi N, Chin W. Thyroid hormone action and brain development. *J Trends of Endocrinology and Metabolism*. 2005; 11: 123-128.
8. Zoeller RT, Crofton KM. Thyroid hormone action in fetal brain development and potential for disruption by environmental chemicals. *J Neurotoxicology*. 2000; 21: 935-945.
9. Bassett J, Swinhoe R, Chassande O, Samarut J, et al. Thyroid Hormone Regulates Heparan Sulfate Proteoglycan Expression in the Growth Plate. *J Endocrinology*. 2005; 147: 295-305.
10. Knipper M, Zinn C, Maier H, Praetorius M, et al. Thyroid hormone deficiency before the onset of hearing causes irreversible damage to peripheral and central auditory systems. *J Neurophysiology*. 2007; 83: 3101-112.
11. Farwell A, Dubord-Tomasetti S. Thyroid Hormone Regulates the Expression of Laminin in the Developing Rat Cerebellum. *J Endocrinology*. 1999; 140: 4221-4227.
12. Kung A. Thyroid Disease In Pregnancy. *HKMJ*. 1997; 3: 388-390.

The Immunohistochemical Effect of Maternal Hypothyroidism and Hyperthyroidism during Pregnancy and Lactation on Skin Development in Wistar Rat Newborns

Amerion M, M.Sc.^{1*}, Hushmand Z, M.Sc.¹, Tahajjodi SS, M.Sc.¹, Mahdavi Shahri N, Ph.D.¹,
Jalali M, Ph.D.², Nikravesheh MR, Ph.D.²

1. Department of Biology, Basic Sciences Faculty, Ferdowsi University of Mashhad

2. Department of Anatomy and Cell Biology, School of Medicine, Mashhad University of Medical Sciences

* Email corresponding author: m.amerion@yahoo.com

Received: 31 Dec. 2011

Accepted: 13 Mar. 2012

Abstract

Aim: Previous studies have shown that thyroid hormones are necessary for normal development of many tissues in the human body. So In this investigation, the effect of maternal hypothyroidism on neonatal skin development was studied using immunohistochemistry technique.

Material and methods: Rats were divided in 4 groups hypothyroid, hyperthyroid, hypothyroid treated with thyroxine and control, each group containing 10 rats. 14 days before mating, hypothyroid, hyperthyroid and hypothyroid treated with thyroxine groups, were respectively exposed to Propylthiouracil (PTU) (50 mg/lit), levothyroxine 1 mg/lit and both PTU (50 mg/lit) and levothyroxine (1 mg/lit) simultaneously. After 14 days, blood test was taken from mothers and in the case of desired changes in hormone levels, rats were allowed to mate. After pregnancy and delivery, the dorsal skins of the 10 days old newborns were used for immunohistochemical studies.

Results: in this study, in most area of skin, significant increase of laminin expression in hypothyroid groups ($p=0.002$) and significant decrease of laminin expression in hyperthyroid groups ($p=0.007$) were observed. Also in treated hypothyroid with thyroxine rather than control group no significant difference was observed.

Conclusion: Maternal hypothyroidism causes considerable changes in the expression of laminin in different areas of skin. While maternal hyperthyroidism causes opposite results in laminin expression. In fact, thyroid hormone causes negative regulation of laminin expression. There fore, rising of thyroid hormone levels leads to a decrease in laminin expression and overhand. So, changes in thyroid hormones level can cause various changes in different areas of newborns skin.

Keywords: Laminin, Thyroid disorders, Skin development, Immunohistochemistry