

© В. В. Криштон, Т. А. Румянцева, Л. С. Агаджанова, 2019  
УДК 611.441:612.821:599.323.4

В. В. Криштон<sup>1</sup>, Т. А. Румянцева<sup>2</sup>, Л. С. Агаджанова<sup>2</sup>

## СТРОЕНИЕ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ У КРЫС С РАЗНОЙ СТРЕССОУСТОЙЧИВОСТЬЮ ПРИ ЦЕРЕБРАЛЬНОЙ ГИПОПЕРФУЗИИ

<sup>1</sup> Научно-исследовательский центр (руков. — В. В. Криштон), ФГБОУ ВО «Ивановская государственная медицинская академия» Минздрава России; <sup>2</sup> кафедра анатомии человека (зав. — проф. Т. А. Румянцева), ФГБОУ ВО «Ярославский государственный медицинский университет» Минздрава России

**Цель** — изучить структурные особенности щитовидной железы у животных с разной стрессоустойчивостью при церебральной гипоперфузии.

**Материал и методы.** Исследована микроструктура щитовидной железы у 104 крыс с разным уровнем стрессоустойчивости, верифицированной в тесте «открытое поле». На микропрепаратах щитовидной железы измеряли высоту тироцитов, диаметр фолликулов, площадь единичного островка интерфолликулярного эпителия, удельную площадь перифолликулярных гемокапилляров и среднюю площадь тучных клеток.

**Результаты.** Животные с высокой стрессоустойчивостью по сравнению с животными с низкой стрессоустойчивостью имеют значимые структурные отличия щитовидной железы: увеличенную высоту тиреоидного эпителия и удельную площадь гемокапилляров, а также более высокие показатели средней площади тучных клеток. Церебральная гипоперфузия сопровождается активизацией фолликулогенеза, уменьшением площади тучных клеток и увеличением кровенаполнения перифолликулярных гемокапилляров. У животных с высоким уровнем стрессоустойчивости уменьшение высоты тироцитов в ранние сроки сменяется на 35-е сутки эксперимента ее ростом, отмечается активизация фолликулогенеза.

**Выводы.** Уровень стрессоустойчивости у животных ассоциирован со структурными параметрами щитовидной железы. При церебральной гипоперфузии группы с высокой и низкой стрессоустойчивостью имеют различную динамику и выраженность компенсаторных изменений.

**Ключевые слова:** щитовидная железа, стрессоустойчивость, церебральная гипоперфузия, эксперимент

**Введение.** Щитовидная железа (ЩЖ) является одним из ведущих органов, определяющих выраженность реакции на стрессовые и дистрессовые воздействия [1, 5]. Морфологическими критериями инкреторной активности железы являются высота тиреоидного эпителия, размеры фолликулов, площадь фолликулярного коллоида. Изменения этих параметров отмечены при иммобилизационном [6], термическом [1], холодовом стрессе и т. д.

Многочисленные функциональные связи между активностью ЩЖ и метаболизмом нейронов коры головного мозга [12] позволяют предполагать зависимость степени структурно-функциональных преобразований ЩЖ от стрессоустойчивости животного и при церебральной гипоперфузии, но такие данные отрывочны и противоречивы [7, 8].

Цель исследования — изучить микроструктуру щитовидной железы у животных с разной стрессоустойчивостью и выявить типологи-

ческие особенности реакции на церебральную гипоперфузию.

**Материал и методы.** Эксперимент проводили на 104 крысах обоего пола массой 180–200 г линии Вистар в возрасте 3 мес. Крысы содержались в стандартных условиях вивария. Эксперимент одобрен этическим комитетом ФБОУ ВО ЯГМУ Минздрава России и выполнен в соответствии с соблюдением «Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных», Хельсинкской декларации 1975 г. и ее пересмотренного варианта 2000 г.

Ориентировочно-исследовательское поведение животных оценивалось перед включением животных в эксперимент с помощью теста «открытое поле» для разделения их на группы [2]. Все исследуемые животные были разделены на контрольную (24 животных: 12 самцов и 12 самок) и экспериментальную группу (80 животных: 40 самцов и 40 самок). В каждой группе выделяли по две одинаковые по численности подгруппы: животные с низким и высоким уровнем тревожности (соответственно с высокой и низкой стрессоустойчивостью).

В экспериментальной группе крыс недостаточность мозгового кровообращения моделировали постоянной одномоментной билатеральной окклюзией общих сонных артерий [9]. Операцию проводили под внутривентриальным наркозом золетилом (20–40 мг/кг). Крыс выводили из эксперимента через 8, 14, 21, 28 и 35 сут после операции. ЩЖ фиксиро-

### Сведения об авторах:

Криштон Владимир Владимирович (e-mail: [chrishtop@mail.ru](mailto:chrishtop@mail.ru)), Научно-исследовательский центр, ФГБОУ ВО «Ивановская государственная медицинская академия» Минздрава России, 153012, г. Иваново, Шереметьевский пр., 8

Румянцева Татьяна Анатольевна (e-mail: [rum-yar@mail.ru](mailto:rum-yar@mail.ru)), Агаджанова Лилия Семеновна (e-mail: [lili2573@mail.ru](mailto:lili2573@mail.ru)), кафедра анатомии человека, ФГБОУ ВО «Ярославский государственный медицинский университет» Минздрава России, 150000, г. Ярославль, ул. Революционная, 5

Морфометрические показатели тиреоидного эпителия фолликулов в щитовидной железе у крыс с разными уровнями стрессоустойчивости

Показатель	Высота тиреоидного эпителия фолликулов (мкм)		Средний диаметр фолликула (мкм)		Площадь единичного островка интерфолликулярного эпителия (мкм <sup>2</sup> )		Удельная площадь гемакпилляров (%)		Средняя площадь тучных клеток (мкм <sup>2</sup> )	
	Низкий	Высокий	Низкий	Высокий	Низкий	Высокий	Низкий	Высокий	Низкий	Высокий
Группа животных										
Контроль	10,6±0,7	9,2±0,8	47,2±2,2	46,3±1,9	106,2±10,6 <sup>#</sup>	146,1±10,1	2,3±0,2	2,3±0,2	117±16	121±18
8 сут	7,3±0,3 <sup>*,**</sup>	5,9±0,3 <sup>*</sup>	45,1±2,1	46,7±2	128,2±6,3 <sup>*,**</sup>	152,4±7,3	2,8±0,1 <sup>*,**</sup>	3,6±0,2 <sup>*</sup>	30±4 <sup>*</sup>	31±4 <sup>*</sup>
14 сут	7,4±0,3 <sup>*,**</sup>	7±0,3 <sup>*</sup>	44±2 <sup>*</sup>	43,2±1,8 <sup>*</sup>	189,7±9 <sup>*,**</sup>	95,5±4,2 <sup>*</sup>	3,5±0,2 <sup>*,**</sup>	4,1±0,2 <sup>*</sup>	47±6 <sup>*</sup>	47±7 <sup>*</sup>
21 сут	9,5±0,4	9±0,4	56,5±2,5 <sup>*,**</sup>	50,4±2,2	203,9±9,9 <sup>*,**</sup>	149,7±6,2	3,4±0,1 <sup>*,**</sup>	4,2±0,2 <sup>*</sup>	54±8 <sup>*</sup>	50±5 <sup>*</sup>
28 сут	10,3±0,4 <sup>#</sup>	8±0,3 <sup>*</sup>	58,7±2,5 <sup>*,**</sup>	54,8±2,5 <sup>*</sup>	211,1±10,2 <sup>*,**</sup>	245±10,4 <sup>*</sup>	3,0±0,1 <sup>*,**</sup>	3,8±0,2 <sup>*</sup>	69±7 <sup>*</sup>	50±8 <sup>*</sup>
35 сут	12,2±0,6 <sup>*</sup>	8,4±0,3	61,9±2,9 <sup>*</sup>	57,4±2,5 <sup>*</sup>	301,4±14,6 <sup>*,**</sup>	354,9±15,4 <sup>*</sup>	3,8±0,2 <sup>*,**</sup>	3,4±0,1 <sup>*</sup>	34±5 <sup>*,**</sup>	72±10 <sup>*</sup>

\* Различия значимы по сравнению с группой контроля; \*\* различия значимы по сравнению с подгруппой с высоким уровнем стрессоустойчивости.

вали в 10 % нейтральном забуференном формалине (БиоВитрум), проводку осуществляли промежуточными смесями Блик (БликМедиклПродакшн, Россия). Серийные срезы толщиной 5 мкм изготавливали с помощью HM 450 Sliding Microtome (Карл Цейсс, Германия), окрашивали гематоксилином — эозином Майора (БиоВитрум, Россия) и метиловым зеленым и пиронином по методу Браше (набор реагентов метиловый зеленый и пиронин, ООО НПО «Инновационные биомедицинские технологии», Россия).

На срезах, окрашенных гематоксилином — эозином, определяли высоту тиреоидного эпителия фолликулов (Ht), максимальный и перпендикулярный ему диаметр фолликула, на основании которых рассчитывали средний диаметр фолликула (Df), площадь единичного островка интерфолликулярного эпителия (Si), удельную площадь гемакпилляров (Sh) (последняя — в %). На препаратах, окрашенных по Браше, определяли среднюю площадь тучных клеток (Stb) [4]. Гистологические препараты изучали методом световой микроскопии с использованием микроскопа Axio Scope.A1 d (Carl Zeiss Microscopy GmbH, Германия). Фотодокументирование проводили с использованием камеры Mikroskopie-KamerasAxioCam 105 color, визуализацию препаратов и цифровую обработку их изображений выполняли с помощью программы Image J Version 1.51w. Статистическая обработка данных включала вычисление среднеарифметического значения изучаемого параметра, его ошибки, оценку амплитуды вариационного ряда. О значимости различий судили по величине t-критерия Стьюдента с уровнем значимости различий между сравниваемыми показателями при  $p < 0,05$ .

Результаты исследования. При морфометрии ЩЖ в подгруппе стрессоустойчивых животных контрольной группы выявлена значимо большая средняя высота тироцитов. Все остальные изучаемые параметры различий не имели. На 8-е сутки после операции происходило уменьшение средней высоты тироцитов по сравнению с контрольными показателями. Удельная площадь перифолликулярных гемакпилляров на этом и в последующие сроки исследования, вплоть до конца эксперимента, была значимо выше, чем у интактных животных. Площадь тучных клеток была минимальной, что может рассматриваться как следствие дегрануляции. В последующие сроки до 28-х суток после операции размеры тучных клеток увеличивались, однако не достигали значений у интактных животных (таблица). Коллоид фолликулов через 8 сут после операции имел равномерную эозинофильную окраску. Средний размер интерфолликулярного островка эпителия значимо увеличивался только в подгруппе животных с низкой стрессоустойчивостью, что сопровождалось активацией фолликулогенеза путем разделения просвета фолликула (рис. 1).

На 14-е сутки после операции средняя площадь интерфолликулярных островков тиреоидного эпителия у животных с низким уровнем стрессоустойчивости увеличивалась, а у животных с высокой стрессоустойчивостью — уменьшалась по сравнению с показателями у интактных животных. В более поздние сроки исследования (на 21-, 28-е и 35-е сутки) отмечали увеличение среднего размера интерфолликулярных островков эпителия. Оно было более интенсивным у животных с высоким уровнем стрессоустойчивости: прирост составил 56, 63 и 49 % соответственно к показателям предыдущего срока, а у животных с низкой стрессоустойчивостью интерфолликулярные островки увеличивались только на 7, 3 и 43 %. Нарастало слушивание тироцитов в просвет фолликулов, сохранялось неравномерное кровенаполнение сосудов (рис. 2).

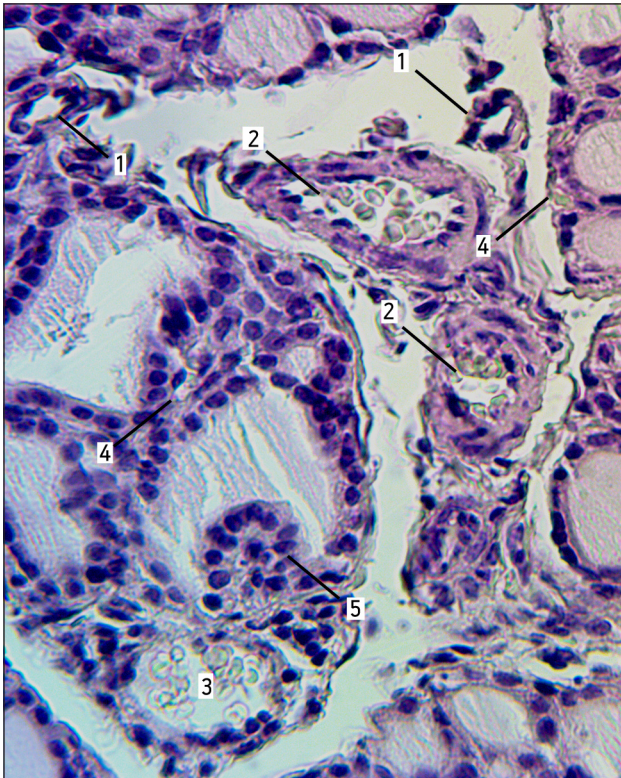


Рис. 1. Щитовидная железа (8-е сутки эксперимента).

1 — спазмированные артерии без эритроцитов; 2 — крупная полнокровная артерия; 3 — вена с признаками умеренного кровенаполнения; 4 — перифолликулярный гемокапилляр с признаками сладжа эритроцитов; 5 — фолликулогенез путем деления просвета фолликула.

Окраска гематоксилином — эозином. Об. 40

Также на 14-е сутки отмечали значимое уменьшение среднего диаметра фолликулов на фоне низких значений средней высоты тироцитов.

Через 21 сут после операции различия по показателям Ht, Df, Stb в подгруппах животных с разным уровнем стрессоустойчивости сглаживаются. Начиная с этого срока и до конца эксперимента, средний диаметр фолликулов и средняя площадь островков интерфолликулярного эпителия увеличивались. У животных с низкой стрессоустойчивостью также увеличивалась средняя высота тироцитов. Признаки фолликулогенеза сохраняются (рис. 3), последний протекает как путем деления просвета фолликула, так и по почечному типу.

На 35-е сутки после операции сохранялась неравномерность в кровенаполнении вен. На периферии органа в крупных фолликулах сохранялись признаки фолликулогенеза. У животных с высокой стрессоустойчивостью средняя высота тироцитов восстанавливалась до контрольных значений, а у животных с низкой стрессоустойчивостью — значительно превышала значения в контроле. Средний диаметр фолликулов в обеих подгруппах также был значительно больше показателя

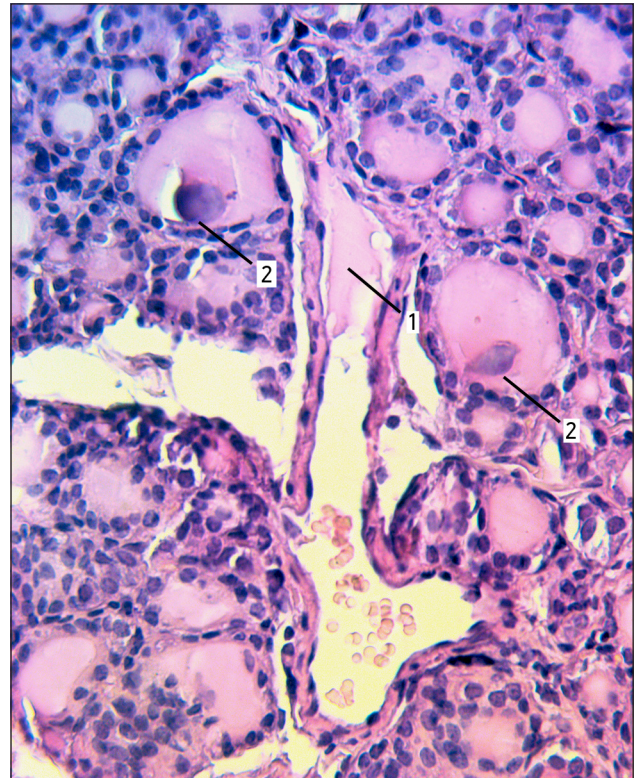


Рис. 2. Щитовидная железа (14-е сутки эксперимента).

1 — умеренно полнокровная вена; 2 — слущивание тироцитов в просвет фолликула.

Окраска гематоксилином — эозином. Об. 40

в контроле. Удельная площадь перифолликулярных гемокапилляров и средний размер интерфолликулярных островков были максимальными за весь период наблюдения, при этом показатели животных с низкой стрессоустойчивостью значительно превосходили показатели у животных с высокой стрессоустойчивостью, что нехарактерно для интактных животных (рис. 4).

Парафолликулярная популяция тучных клеток была многочисленной. Клетки были крупными и имели округлую форму, их цитоплазма интенсивно метакроматично окрашивалась пиронином в оттенки красного. Паравазальные тучные клетки, наоборот, были представлены мелкими, угловатыми клетками, что сочеталось с более равномерным кровенаполнением междольковых сосудов ЩЖ в экспериментальной группе.

Обсуждение полученных данных. Существующие клинические исследования убедительно демонстрируют взаимосвязь функционального состояния ЩЖ и повреждения головного мозга при развитии церебральной гипоперфузии [7, 8]. Авторы установили, что повышенный исходный уровень тиреотропного гормона и трийодтиронина у пациентов с эутиреозом сочетается с более быстрым восстановлением функций организма после инсульта.

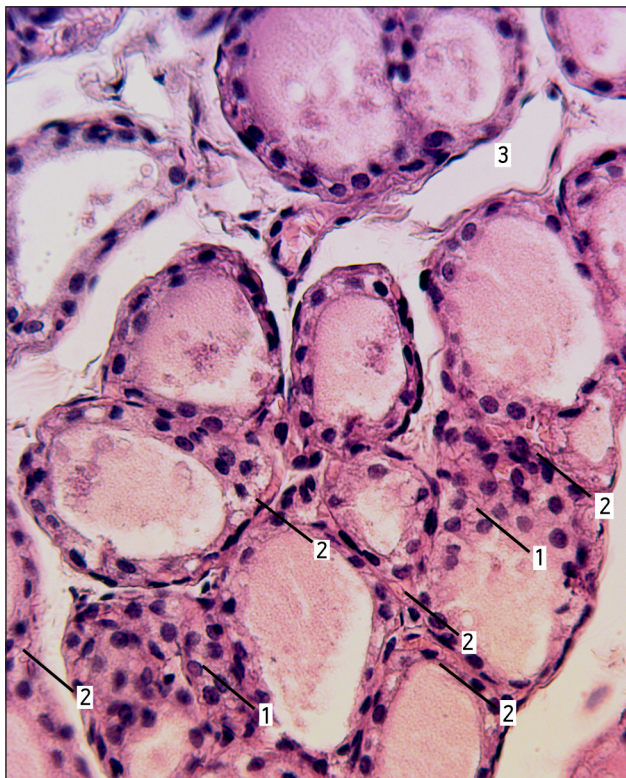


Рис. 3. Щитовидная железа (21-е сутки эксперимента).

1 — продольный срез расширенного перифолликулярного гемокапилляра с эритроцитами в форме «монетных столбиков»; 2 — расширенный перифолликулярный гемокапилляр; 3 — расширенный лимфатический сосуд.

Окраска гематоксилином — эозином. Об. 40

Возможно, это обусловлено типологическими особенностями морфофункциональной организации ЩЖ, выявленными в нашем исследовании у животных с высокой стрессоустойчивостью. Вероятно, увеличенные значения высоты тиреоидного эпителия, удельной площади гемокапилляров и площади гранул в цитоплазме тучных клеток являются морфологическими коррелятами высокой гормон-синтетической активности ЩЖ. Наблюдаемое нами снижение кровоснабжения ЩЖ может быть связано с активацией гипоталамо-гипофизарной системы и выбросом гормонов надпочечников: глюкокортикоидов, глюкагона, катехоламинов [3]. Активация центральных адренергических механизмов увеличивает высвобождение тиреотропного гормона (ТТГ) гипофиза, что может объяснить развитие фолликулогенеза в органе.

Однако, несмотря на активацию фолликулогенеза, повышение ТТГ, описанное в ряде работ [7, 8], увеличение высоты тироцитов нами зафиксировано только спустя 35 сут исследования в подгруппе животных с высоким уровнем стрессоустойчивости. В остальных случаях она не превышала показатели у интактных животных или была значимо меньше. Это представляет

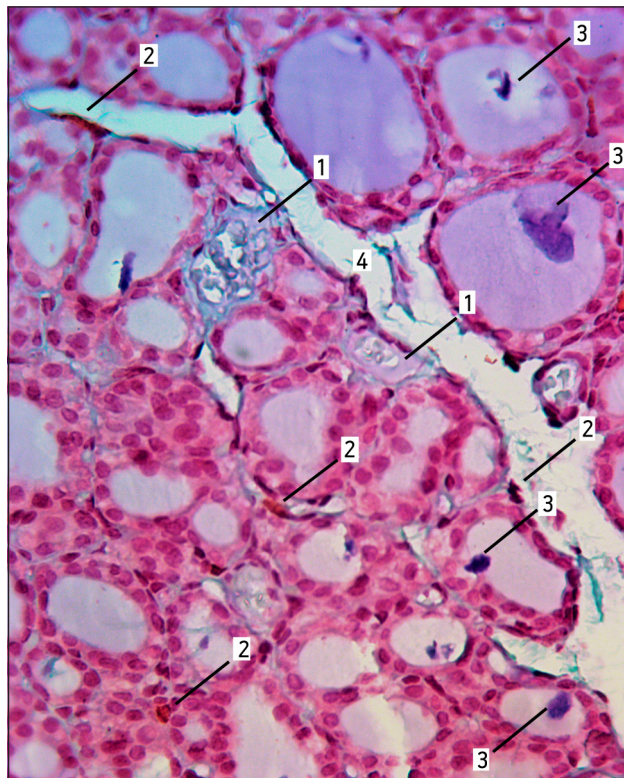


Рис. 4. Щитовидная железа (35-е сутки эксперимента).

1 — внутривольковый сосуд; 2 — мелкие тучные клетки; 3 — пиронинофильные слищивания; 4 — междольковый соединительнотканый промежуток.

Окраска метиловым зеленым и пиронином. Об. 40

интерес с позиций предположения о двухэтапном процессе фолликулогенеза щитовидной железы в организме животного [10], когда формирование структуры фолликула предшествует дифференцировке клеток с гормонсинтетической активностью [11].

**Заключение.** Таким образом, можно сделать следующие выводы:

1) животные с высокой стрессоустойчивостью по сравнению с животными с низкой стрессоустойчивостью имеют значимые отличия структуры щитовидной железы: увеличенную высоту тиреоидного эпителия и повышенную удельную площадь гемокапилляров, а также высокие показатели средней площади тучных клеток щитовидной железы;

2) церебральная гипоперфузия сопровождается активизацией фолликулогенеза, уменьшением площади тучных клеток и увеличением кровенаполнения перифолликулярных гемокапилляров. У животных с высоким уровнем стрессоустойчивости уменьшение высоты тироцитов в ранние сроки сменяется к 35-м суткам эксперимента ее увеличением.

**Вклад авторов:**

Концепция и дизайн исследования: В. В. К.

Сбор и обработка материала: В. В. К.

Статистическая обработка данных: В. В. К.

Анализ и интерпретация данных: В. В. К., Т. А. Р.

Написание текста: В. В. К., Т. А. Р.

**Авторы сообщают об отсутствии в статье конфликта интересов.**

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Бильжанова Г.Ж., Чекуров И.В., Вишневская Т.Я. Морфофункциональный профиль щитовидной железы самцов крыс Wistar в рамках экспериментальной модели «Гипотиреоз — стресс» // Известия ОГАУ. 2016. № 2 (58). С. 177–180 [Bilzhanova G.Zh., Chekurov I.V., Vishnevskaya T.Ya. The morpho-functional profile of thyroid gland in Wistar male rats within the framework of the experimental «hypothyroidism-stress» model // Izvestiya Orenburgskogo gosudarstvennogo ogranogo universiteta. 2016. № 2 (58). P. 177–180. In Russ.].
2. Криштор В.В., Румянцева Т.А., Пахрова О.А. Влияние состояния высшей нервной деятельности и пола на выживаемость при моделировании тотальной гипоксии головного мозга у крыс // Современные проблемы науки и образования. 2015. № 5. С. 270 [Krishtop V.V., Rumyantseva T.A., Pakhrova O.A. Influence of condition of higher nervous activity and sex on survival in modeling total cerebral hypoxia in rats // Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya. 2015. № 5. P. 270. In Russ.].
3. Лычкова А.Э. Нервная регуляция функции щитовидной железы // Вестник Российской академии медицинских наук. 2013. Т. 68, № 6. С. 49–55 [Lychkova A.E. Nervous Regulation of Thyroid Function // Vestnik Rossijskoi akademii meditsinskikh nauk. 2013. Vol. 68, № 6. P. 49–55. In Russ.].
4. Черданцева Т.М., Бобров И.П., Авдалян А.М., Климачев В.В., Казарцев А.В., Крючкова Н.Г., Климачев И.В., Мяделец М.Н., Лепилов А.В., Лушникова Е.Л., Молодых О.П. Тучные клетки при раке почки: клинико-морфологические взаимосвязи и прогноз // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2017. Т. 163, № 6. С. 768–772 [Cherdantseva T.M., Bobrov I.P., Avdalyan A.M., Klimachev V.V., Kazartsev A.V., Kryuchkova N.G., Klimachev I.V., Myadelets M.N., Lepilov A.V., Lushnikova E.L., Molodykh O.P. Mast cells in renal cancer: clinical morphological correlations and prognosis // Byulleten' eksperimental'noi biologii i meditsiny. 2017. Vol. 163, № 6. С. 801–804. In Russ.].
5. Янкович Р.В., Березовский В.А., Левашов М.И. Влияние прерывистой гипоксии на морфофункциональное состояние щитовидной железы и печени // Российский физиологический журнал им. И.М.Сеченова. 2017. Т. 103, № 5. С. 553–561 [Yanko R.V., Berезovsky V.A., Levashov M.I. Effect of intermittent hypoxia on morpho-functional state of the thyroid gland and liver // Rossijskii fiziologicheskii zhurnal im. I.M.Sechenova. 2017. Vol. 103, № 5. P. 553–561. In Russ.].
6. Ясенявская А.Л., Самотруева М.А., Лужнова С.А. Влияние антиоксидантов на морфометрические показатели щитовидной железы разновозрастных крыс в условиях иммобилизационного стресса // Биомедицина. 2014. № 3. С. 78–82 [Yasenyavskaya A.L., Samotrueva M.A., Luzhnova S.A. The influence of antioxidants on the morphometric parameters of the thyroid gland of the different ages rats in the conditions of immobilization stress // Biomeditsina. 2014. № 3. P. 78–82. In Russ.].
7. Delpont B., Aboa-Eboulé C., Durier J., Petit J.M., Dumas A., Legris N., Daubail B., Giroud M., Bédot Y. Associations between Thyroid Stimulating Hormone Levels and Both Severity and Early Outcome of Patients with Ischemic Stroke // Eur. Neurol. 2016. Vol. 76, № 3–4. P. 125–131.
8. Dhital R., Poudel D.R., Tachamo N., Gyawali B., Basnet S., Shrestha P., Karmacharya P. Ischemic Stroke and Impact of Thyroid Profile at Presentation: A Systematic Review and Meta-analysis of Observational Studies // J. Stroke Cerebrovasc. Dis. 2017. Vol. 26, № 12. P. 2926–2934. doi: 10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2017.07.015
9. Farkas E., Luiten P.G.M., Bari F. Permanent, bilateral common carotid artery occlusion in the rat: A model for chronic cerebral hypoperfusion-related neurodegenerative diseases // Brain Res. Rev. 2007. Vol. 54, № 1. P. 162–180.
10. Manabu I., Yoshinori T., Yotaro S., Shioko K. An in vivo model for thyroid regeneration and folliculogenesis // Lab. Invest. 2018. Vol. 98, № 9. P. 1126–1132. doi: 10.1038/s41374-018-0068-x
11. Murata T., Iwadata M., Takizawa Y. et al. An adult mouse thyroid side population cell line that exhibits enriched epithelial mesenchymal transition // Thyroid. 2017. Vol. 27, № 3. P. 460–474. doi: 10.1089/thy.2016.0130
12. Sifuentes M.M., Lechleiter J.D. Thyroid Hormone Stimulation of Adult Brain Fatty Acid Oxidation // VitamHorm. 2018. Vol. 106. P. 163–193. doi: 10.1016/bs.vh.2017.05.006

Поступила в редакцию 11.04.2019

Получена после доработки 21.06.2019

#### STRUCTURE OF THE THYROID GLAND IN RATS WITH DIFFERENT STRESS TOLERANCE DURING CEREBRAL HYPOPERFUSION

V. V. Krishtop<sup>1</sup>, T. A. Rumyantseva<sup>2</sup>,  
L. S. Agadzhanova<sup>2</sup>

**Objective** — to study the structural features of the thyroid gland in animals with different stress tolerance during cerebral hypoperfusion.

**Material and methods.** The microstructure of the thyroid gland was studied in 104 rats with different levels of stress tolerance verified in open field test. Thyrocytes height, follicle diameter, areas of single islands of the interfollicular epithelium, relative proportion of perifollicular blood capillaries and average area of mast cell cytoplasm were measured on the thyroid gland slides.

**Results.** Animals with high stress tolerance, compared with animals with low stress tolerance, had significant differences in the structure of the thyroid gland: a greater height of the thyroid epithelium and a greater specific area of blood capillaries as well as larger average area of mast cells of the thyroid gland. Cerebral hypoperfusion was accompanied by the activation of folliculogenesis, a decrease of mast cell area and an increase in the perifollicular capillary blood volume. In animals with a high level of stress tolerance a decrease in the height of thyrocytes in the early periods switched to its growth on the 35th day of the experiment, and activation of folliculogenesis was registered.

**Conclusions.** The animals stress tolerance level is associated with the structural parameters of the thyroid gland. During cerebral hypoperfusion, groups with high and low stress tolerance have different dynamics and severity of compensatory changes.

**Key words:** thyroid gland, stress resistance, cerebral hypoperfusion, experiment

<sup>1</sup> Scientific Research Center, Ivanovo State Medical Academy, 8 Sheremetyevsky pr., Ivanovo 153012, Russian Federation;

<sup>2</sup> Department of Human Anatomy, Yaroslavl' State Medical University, 5 Revolucionnaya St., Yaroslavl' 150000