

© Коллектив авторов, 2013
УДК 611.441.018:612.014.482:599.323.4

А. В. Павлов, О. В. Ермакова, Т. В. Кораблева и О. В. Раскоша

МОРФОМЕТРИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ Фолликулярной СТРУКТУРЫ Щитовидной ЖЕЛЕЗЫ ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ γ -ОБЛУЧЕНИИ В МАЛЫХ ДОЗАХ

Кафедра гистологии, цитологии и эмбриологии (зав. — проф. А. В. Павлов), Ярославская государственная медицинская академия; отдел радиоэкологии (зав. — проф. В. Г. Зайнуллин), Институт биологии Коми НЦ Уральского отделения РАН, г. Сыктывкар

Проведено количественное изучение распределения фолликулов по среднему диаметру их сечений на гистологических срезах щитовидной железы (ЩЖ) мышевидных грызунов (25 полевок-экономок, 24 мыши линии СВА, 16 крыс линии Вистар) после хронического воздействия внешнего низкоинтенсивного γ -излучения в природных условиях и в эксперименте (диапазон поглощенных доз 0,05–0,5 Гр). Анализ спектра распределения фолликулов по диаметру сечения в ЩЖ облученных животных демонстрирует универсальную закономерность: по сравнению с необлученными животными наблюдается отчетливое увеличение (в 1,3–1,7 раза) содержания мелких фолликулов (диаметр сечения у исследованных видов животных — ниже 36–41 мкм). Подобный феномен воспроизведен в модельных опытах (регенерация ЩЖ крыс после гемитиреоидэктомии). Наблюдаемое усиление процессов фолликулогенеза при хроническом облучении в малых дозах может быть расценено как неспецифическая адаптивная реакция органа на радиоиндуцированное повреждение паренхимы ЩЖ.

Ключевые слова: щитовидная железа, фолликулы, морфометрия, облучение

Строение щитовидной железы (ЩЖ) характеризуется высокой лабильностью в ответ на воздействие различных эндогенных и экзогенных факторов [3, 6, 12], что морфологически можно зарегистрировать на разных уровнях ее структурной организации: клеточном (изменения ультраструктуры, гипертрофия клеток, появление генетически aberrантных тироцитов), тканевом (изменения пролиферативной активности тироцитов), структурно-функциональных единиц (перестройки фолликулярной структуры), органном (изменения размеров органа, соотношения в нем основных тканевых элементов) [1, 2, 9].

Морфологические исследования ЩЖ при хроническом воздействии малых доз низкоинтенсивного ионизирующего излучения (диапазон поглощенных доз 0,05–0,5 Гр) немногочисленны [4, 7, 8, 15], ближайшие и отдаленные эффекты данного воздействия на орган неоднозначны и до настоящего времени являются дискуссионными [11, 19]. Известно, что многие техногенные факторы (мутагены, радионуклиды и др.) способны индуцировать развитие компенсаторных и патологических изменений в ЩЖ, сопровождающиеся модуляцией синтеза ДНК и пролиферацией железистых клеток, а также развитием повреждений их генома [3, 9, 13, 17, 20]. Поэтому для оценки

интегральных эффектов хронического воздействия малых доз ионизирующего излучения существенный интерес может представлять вопрос о характере радиационно-индуцированных перестроек фолликулярной организации ЩЖ [10].

Цель настоящего исследования — количественное изучение распределения фолликулов по их величине в ЩЖ мышевидных грызунов после хронического воздействия внешнего низкоинтенсивного γ -излучения в природных условиях и эксперименте для установления возможного влияния данного фактора на активность морфогенетических процессов.

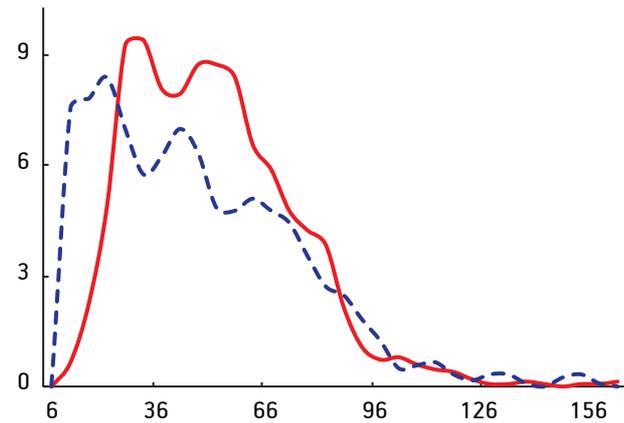
Материал и методы. В качестве объектов исследования были использованы полевки-экономки (*Microtus oeconomus* Pall.), обитающие на участках с нормальным и повышенным фоном радиации, и лабораторные виды грызунов: мыши линии СВА и крысы линии Вистар.

Серия 1. γ -Излучение в природных условиях. Участки, на которых отлавливали полевок (Ухтинский радиевый стационар в районе пос. Водный Республики Коми), различались по уровню γ -фона и содержанию радионуклидов в почве и воде, но были близки по другим экологическим условиям. На контрольном участке мощность дозы не превышала естественного фонового уровня (0,10–0,15 мкГр/ч), на радиевом участке — на 1–2 порядка превышала фон (0,5–20,0 мкГр/ч). Суммарные дозовые нагрузки за счет внешнего облучения, инкорпорированных радионуклидов и от газообразных ^{222}Rn

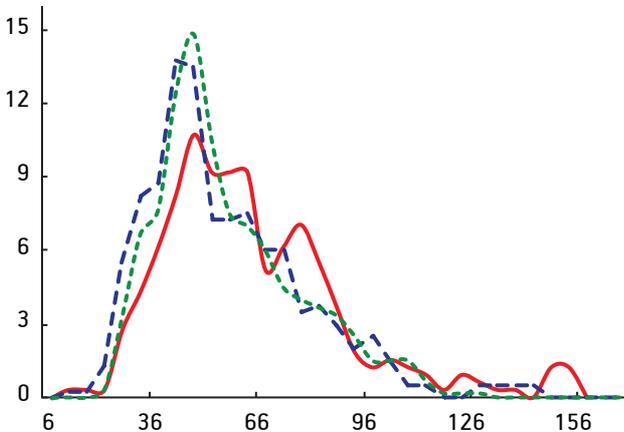
Сведения об авторах:

Павлов Алексей Владимирович (e-mail: pavlov@yma.ac.ru), *Кораблева Татьяна Владимировна*, кафедра гистологии, цитологии и эмбриологии, Ярославская государственная медицинская академия, 150000, Ярославль, ул. Революционная, 5

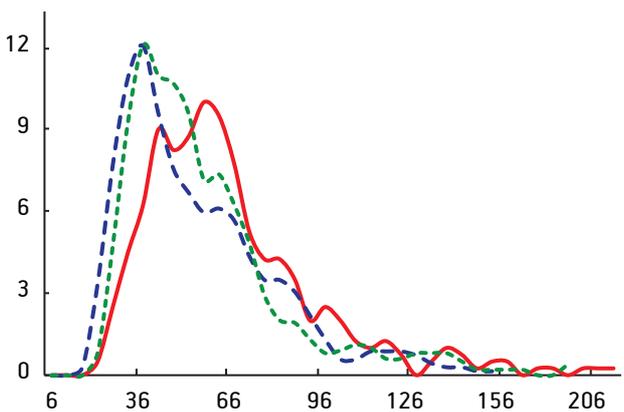
Ермакова Ольга Владимировна (e-mail: ermakova@ib.komisc.ru), *Раскоша Оксана Вениаминовна* (e-mail: raskosha@ib.komisc.ru), отдел радиоэкологии, Институт биологии Коми НЦ Уральского отделения РАН, 167982, Сыктывкар, ул. Коммунистическая, 28



а



б



в

Распределение фолликулов различного диаметра в щитовидной железе после хронического облучения полевок в природных условиях (а), мышей линии СВА (б) и крыс линии Вистар (в) в эксперименте.

а-в — сплошные линии — необлученные животные (контроль); а — штриховая линия — облучение в дозе 0,3–3,0 сГр/год; б — штриховая линия — облучение в дозе 1,6 сГр; пунктирная линия — облучение в дозе 4,8 сГр; в — штриховая линия — облучение в дозе 50 сГр; пунктирная линия — гемитироидэктомия. По оси абсцисс — средний диаметр сечения фолликула (мкм); по оси ординат — частота встречаемости фолликулов каждого класса (%)

и ^{220}Rn составили в среднем от 0,3 до 3,0 сГр/год [7, 15]. Изучена ЩЖ 25 половозрелых самцов массой 48–56 г (11 — опыт, 14 — контроль).

Серия 2. γ -Излучение в условиях эксперимента. Опыты моделирования хронического облучения проведены в виварии, источником γ -излучения были 2 ампулы, содержащие $0,474 \cdot 10^6$ и $0,451 \cdot 10^6$ кБк ^{226}Ra . Уровни облучения, используемые в эксперименте, имитировали условия внешнего γ -фона в природных условиях. Дозовая нагрузка на организм определялась мощностью экспозиционной дозы и сроками содержания в условиях облучения; измерения проводили радиометром ДРГ-01Т1 (НПП «Доза», Россия). Животные находились в зоне воздействия ионизирующего излучения круглосуточно с перерывами на кормление и уборку помещения. Контрольные группы животных того же возраста содержали при естественном радиационном фоне в условиях, строго идентичных с экспериментальными. Каждой группе животных соответствовал свой контроль. Животных умерщвляли передозировкой паров эфира.

Опыт 1-й. Половозрелых мышей-самцов линии СВА массой 18–25 г облучали в течение 30 и 90 сут при постоянной мощности дозы γ -излучения; поглощенные дозы составили соответственно 1,6 и 4,8 сГр (по 8 животных в каждой подопытной группе и контроле). Материал для исследования ЩЖ брали через 30 сут после окончания радиационного воздействия.

Опыт 2-й. Крыс линии Вистар (8 половозрелых самцов массой 170–220 г) подвергали хроническому облучению в течение 55 сут, поглощенная доза составила — 50 сГр. 8 животных служили контролем. Материал для исследования ЩЖ брали через 60 сут после окончания радиационного воздействия.

В дополнительном эксперименте в качестве стандартной модели индукции пролиферации тироцитов и активизацию процессов фолликулогенеза использовали левостороннюю гемитироидэктомия [9]. Опыты выполнены на 8 взрослых крысах линии Вистар (самцы) массой 180–230 г, 8 животных служили контролем. Операции проводили под общим гексеналовым наркозом, ЩЖ исследовали через 10 сут после начала эксперимента.

Материал фиксировали в жидкости Буэна и 10% нейтральном формалине. Парафиновые срезы ЩЖ толщиной 4–5 мкм окрашивали гематоксилином — эозином. Препараты анализировали под микроскопом Бимам ЕС Р-11 (ЛОМО, СССР) при объективах 40 и 100. Диаметры сечений фолликулов измеряли с помощью винтового окулярного микрометра. У каждого животного на центральных срезах ЩЖ изучали по 100–150 фолликулов с попавшим в срез коллоидом. Каждый фолликул измеряли в двух взаимно перпендикулярных плоскостях (максимальный и минимальный диаметры), средний диаметр каждого фолликула рассчитывали как полусумму данных измерений. Для каждой серии опытов производили построение графиков распределения фолликулов по среднему диаметру их сечений у подопытных и контрольных животных, для выявления закономерностей процессов использовали сглаживание методом скользящей средней.

Результаты исследования. Серия 1. γ -Излучение в природных условиях. В ЩЖ контрольных полевок-экономок преобладают (49%) фолликулы диаметром сечения 31–51 мкм (рисунком, а). У животных, отловленных на территориях с повышенной радиоактивностью, суммарная доля

фолликулов данных размерных классов снижается до 39% и одновременно в 1,3 раза возрастает частота более мелких фолликулов диаметром 6–31 мкм (соответственно 37% в опыте и 29% в контроле).

Серия 2. γ -Излучение в условиях эксперимента. Распределение фолликулов в ЩЖ облученных мышей линии СВА (опыт 1-й) имеет унимодальный характер (см. рисунок, б) с максимальной частотой (13–14,7%) фолликулов диаметром сечения 46 мкм, отчетливо превышающей частоту фолликулов данного размерного класса в контроле (10,2%). Суммарная доля мелких фолликулов (диаметр сечения 6–46 мкм) у облученных животных оказалась соответственно в 1,3 и 1,4 раза выше, чем в контроле (1,6 сГр — 52%, 4,8 сГр — 56%, необлученные животные — 40%).

В ЩЖ контрольных крыс линии Вистар (опыт 2-й) преобладают фолликулы диаметром сечения 41–51 мкм, а при хроническом облучении в дозе 50 сГр отмечено отчетливое возрастание частоты мелких фолликулов с максимальным диаметром 36 мкм (см. рисунок, в). Суммарная доля мелких фолликулов (диаметр сечения 6–41 мкм) у подопытных животных оказалась в 1,7 раза выше, чем в контроле (соответственно 48 и 28%).

В условиях модельного эксперимента по стимуляции процессов пролиферации и фолликулогенеза (гемитироидэктомия) у крыс линии Вистар также отмечен рост частоты встречаемости мелких фолликулов с максимальными значениями диаметра сечения 36 мкм (см. рисунок, в). Суммарная доля мелких фолликулов (диаметр сечения 6–41 мкм) у оперированных животных в 1,5 раза превышала контроль (соответственно 42 и 28%).

Обсуждение полученных данных. Анализ спектра распределения фолликулов по диаметру их сечения в ЩЖ у полевок, отловленных на участках с повышенной радиоактивностью, а также у мышей и крыс в эксперименте с хроническим облучением демонстрирует универсальную закономерность: по сравнению с необлученными животными в условиях хронического низкоинтенсивного γ -излучения наблюдается отчетливый рост (в 1,3–1,7 раза) содержания мелких фолликулов. Подобный феномен, воспроизводящийся в модельных опытах (регенерация ЩЖ крыс после гемитироидэктомии), свидетельствует об активизации процессов фолликулогенеза [1]. В основе обнаруженных перестроек фолликулярной структуры ЩЖ может лежать растянутое во времени радиоиндуцированное возрастание пролиферативной активности тироцитов. Об этом свидетельствуют результаты экспериментов, проведенных

как на культурах железистых клеток [13, 14], так и *in vivo*: в ЩЖ облученных крыс (серия 2, опыт 2-й) обнаружено повышение в 3 раза по сравнению с контролем содержания микронуклеированных тироцитов, имеющих постмитотическую природу и накапливающихся в органе на протяжении длительного времени [4]. Рост содержания мелких фолликулов, обладающих, по данным ряда авторов, повышенным пролиферативным потенциалом и уровнем метаболизма [5, 16], может быть расценен как неспецифическая адаптивная реакция органа на хроническое радиоиндуцированное повреждение железистых клеток [6, 15, 18]. Результаты исследования свидетельствуют о стимулирующем влиянии хронического внешнего низкоинтенсивного γ -излучения на активность морфогенетических процессов в паренхиме ЩЖ.

Работа частично поддержана проектом конкурсных программ научных исследований УрО РАН № 12-У-4-1015.

ЛИТЕРАТУРА

1. Быков В. Л. Гетерогенность щитовидной железы млекопитающих и возрастные изменения органа. *Арх. анат.*, 1979, т. 77, вып. 10, с. 61–71.
2. Глумова В. А. Щитовидная железа. В кн.: Структурные основы адаптации и компенсации нарушенных функций. М., Медицина, 1987, с. 320–328.
3. Глумова В. А., Черенков И. А., Семенов В. Р. и др. Экологическая лабильность морфологических параметров щитовидной железы человека в раннем постнатальном онтогенезе. *Морфология*, 2000, т. 66, вып. 3, с. 36.
4. Ермакова О. В., Павлов А. В. и Кораблева Т. В. Цитогенетические эффекты в фолликулярном эпителии при длительном воздействии низкоинтенсивного гамма-излучения. *Радиационная биология. Радиозэкология*, 2008, т. 48, № 2, с. 160–166.
5. Кораблева Т. В. Изучение клеток с микроядрами в оценке возрастных закономерностей щитовидной железы: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. М., 2007.
6. Лягинская А. М., Маханькова Н. Г. и Терещенко Н. Я. Влияние ионизирующего излучения на щитовидную железу. В кн.: Метаболическое и биологическое действие радионуклидов при оральном поступлении в организм. М., изд. Инт-та биофизики, 1989, с. 119–139.
7. Маслова К. И., Материй Л. Д., Ермакова О. В. и Таскаев А. И. Атлас патоморфологических изменений у полевок-экономок из очагов локального радиоактивного загрязнения. СПб., Наука, 1994.
8. Надольник Л. И., Нецецкая З. В. и Виноградов В. В. Влияние длительного воздействия гамма-излучения в малых дозах на тиреоидный статус крыс. *Радиационная биология. Радиозэкология*, 2004, т. 44., № 1, с. 76–80.
9. Павлов А. В., Гансбургский А. Н., Гансбургский М. А. и др. Использование микроядерного теста для выявления генотоксических повреждений щитовидной железы. *Бюл. эксп. биол.*, 2006, т. 141, № 1, с. 99–102.
10. Павлов А. В., Ермакова О. В., Кораблева Т. В. и Раскоша О. В. Формирование микрофолликулов щитовидной железы под

- влиянием хронического гамма-облучения. Морфология, 2012, т. 141, вып. 3, с. 119.
11. Цыб А. Ф. и Поверенный А. М. Повреждения щитовидной железы в период Чернобыльской аварии: вероятные последствия. В кн.: Последствия Чернобыльской катастрофы: Здоровье человека. М., Медицина, 1996, с. 219–228.
 12. Щитовидная железа: Фундаментальные аспекты. Под ред. А. И. Кубарко и С. Ямасита. Минск, Нагасаки, 1998.
 13. Abou-El-Ardat K., Derradji H., de Vos W. et al. Response to low-dose X-irradiation is p53-dependent in a papillary thyroid carcinoma model system. *Int. J. Oncol.*, 2011, v. 39, № 6, p. 1429–1441.
 14. Abou-El-Ardat K., Monsieurs P., Anastasov N. et al. Low dose irradiation of thyroid cells reveals a unique transcriptomic and epigenetic signature in RET/PTC-positive cells. *Mutat. Res.*, 2012, v. 73, № 1–2, p. 27–40.
 15. Ermakova O. V. Comparative morphological analysis of peripheral endocrine glands of small mammals inhabiting areas with high levels of radioactivity and exposed to chronic irradiation in model experiments. *Biophysics*, 2011, v. 56, № 1, p. 135–139.
 16. Faggiano A., Coulot J., Bellon N. et al. Age-dependent variation of follicular size and expression of iodine transporters in human thyroid tissue. *J. Nucl. Med.*, 2004, v. 45, № 2, p. 232–237.
 17. Krohn K., Fuhrer D., Bayer Y. et al. Molecular pathogenesis of euthyroid and toxic multinodular goiter. *Endocr. Rev.*, 2005, v. 26, № 4, p. 504–524.
 18. Nagayama Y., Kaminoda K., Mizutori Y. et al. Exacerbation of autoimmune thyroiditis by a single low dose of wholebody irradiation in non-obese diabetic-H2(h4) mice. *Int. J. Radiat. Biol.*, 2008, v. 84, № 9, p. 761–769.
 19. Suzuki K. and Yamashita S. Low-dose Radiation Exposure and Carcinogenesis. *Jap. J. Clin. Oncol.*, 2012, v. 42, № 7, p. 563–568.
 20. Tallini G. Molecular pathobiology of thyroid neoplasms. *Endocrinol. Pathol.*, 2002, v. 13, № 4, p. 271–288.
- Поступила в редакцию 12.02.2013
- ### MORPHOMETRIC ANALYSIS OF FOLLICULAR STRUCTURE OF THE THYROID GLAND AFTER CHRONIC LOW-DOSE Γ -IRRADIATION
- A. V. Pavlov, O. V. Yermakova, T. V. Korablyova and O. V. Raskosha*
- A quantitative study of follicle average cross-sectional diameter distribution was conducted in the thyroid gland (TG) of mouse like rodents (25 tundra voles, 24 CBA mice, 16 Wistar rats) after chronic exposure to low-level external γ -radiation both in the environment and under the experimental condition (absorbed dose range 0.05–0.5 Gy). Spectrum analysis of TG follicle cross-sectional diameter distribution in the irradiated animals has demonstrated a universal regularity: in comparison with the unirradiated animals there was a significant (1.3–1.7-fold) increase in content of small follicles (with a cross-sectional diameter lower than 36–41 μm in the studied animal species). A similar phenomenon was reproduced in the model experiments (TG regeneration in rats after hemithyroidectomy). The observed activation of the folliculogenesis processes after chronic low-dose irradiation in small doses may be interpreted as a non-specific adaptive reaction of TG to radiation induced damage of its parenchyma.
- Key words:** *thyroid gland, follicles, morphometry, irradiation*
- Department of Histology, Cytology and Embryology, Yaroslavl State Medical Academy, Department of Radioecology, Institute of Biology, Komi science centre, Ural branch of RAS, Moscow, Syktyvkar