

© Д. Р. Соляникова, Г. В. Брюхин, 2013
УДК 611.441.018:616.36:612.65:599.323.4

Д. Р. Соляникова и Г. В. Брюхин

ХАРАКТЕРИСТИКА ПАРАФолликулярных клеток щитовидной железы потомства самок крыс с хроническим экспериментальным поражением печени в различные сроки постнатального онтогенеза

Кафедра гистологии, эмбриологии и цитологии (зав. — проф. Г. В. Брюхин), Челябинская государственная медицинская академия

Изучали структурно-функциональные особенности популяции парафолликулярных клеток (ПФК) щитовидной железы у 48 крыс, рожденных от самок с хроническим экспериментальным поражением печени, вызванным введением D-галактозамина гидрохлорида. С помощью импрегнации нитрата серебра по Гримелиусу у животных определено количество ПФК и изучены их разновидности по уровню и характеру гранулярного насыщения и степени дегрануляции. По сравнению с животными контрольной группы выявлено увеличение содержания ПФК на условной единице площади, повышение числа опустошенных клеток и клеток с преимущественным расположением гранул на сосудистом полюсе. Отмечен рост числа клеток с умеренной и значительной дегрануляцией. Наблюдаемые изменения могут свидетельствовать о повышении функциональной активности популяции ПФК у экспериментальных животных.

Ключевые слова: щитовидная железа, парафолликулярные клетки, хроническое поражение печени, потомство самок крыс

Неотъемлемым компонентом паренхимы щитовидной железы (ЩЖ) у человека и большинства животных, помимо фолликулярных клеток, являются С- или парафолликулярные клетки (ПФК), участвующие в кальциевом обмене и процессах регуляции интраорганного гомеостаза [5]. Вследствие этого в условиях патологии данные клетки могут принимать участие в адаптации органа и организма в целом к действию неблагоприятного фактора. Важнейшим условием рождения здорового, полноценного потомства является здоровье материнского организма. Среди экстрагенитальной патологии особое место занимают хронические заболевания печени [10]. В условиях эксперимента доказано, что у животных, имеющих различные формы хронического гепатита, рождается потомство с морфофункциональными нарушениями различных органов и систем организма, в том числе репродуктивной [3], эндокринной [9] и других. В связи с этим целью настоящего исследования явилось изучение особенностей структурно-функционального становления популяции ПФК ЩЖ у потомства самок крыс с хроническим экспериментальным поражением печени.

Материал и методы. В эксперименте были использованы белые беспородные лабораторные крысы-самки массой 180–200 г и их потомство на 1-, 15-, 30-, 45-е и 60-е сутки постнатального онтогенеза. Сроки исследования выбраны с

учетом общепризнанных возрастных периодов у крыс [4]. Хроническое поражение печени создавали путем однократного внутрибрюшинного введения самкам D-галактозамина гидрохлорида (Sigma-G0500, США) в дозе 250 мг/кг массы тела [2, 13]. Хроническое поражение гепатобилиарной системы у экспериментальных животных верифицировали с помощью морфологических, биохимических и иммунологических методов исследования. На 10-е сутки после введения препарата самок подсаживали к самцам для получения потомства. Животные были разделены на 2 группы: 1) потомство от интактных самок — контрольная группа (131 животное из 35 пометов); 2) потомство от самок с хроническим поражением печени, обусловленным введением D-галактозамина гидрохлорида (48 животных из 19 пометов). При проведении эксперимента были соблюдены «Правила проведения работ с использованием экспериментальных животных». Выделенную ЩЖ фиксировали в жидкости Буэна. Серийные гистологические срезы толщиной 6 мкм импрегнировали нитратом серебра по методу Гримелиуса в модификации Никонova [6]. Подсчитывали абсолютное количество ПФК на условной единице площади среза — $1251,6 \text{ мкм}^2$, а также оценивали субпопуляционный состав ПФК по степени и характеру их гранулярного насыщения [7] и степени дегрануляции, т. е. определяли долю каждого типа ПФК в общей популяции. При анализе субпопуляционного состава ПФК по степени и характеру гранулярного насыщения производили подсчет числа клеток, заполненных равномерно расположенными по всей цитоплазме аргирофильными гранулами. При этом выделяли сильно гранулированные (первый, а-тип) и умеренно гранулированные (первый, б-тип) формы. Кроме того, производили подсчет и анализ клеток с преимущественной концентрацией гранул на тироцитарном (второй

Сведения об авторах:

Соляникова Дарья Рашидовна (e-mail: ZhdanovaDR@mail.ru), Брюхин Геннадий Васильевич, кафедра гистологии, эмбриологии и цитологии, Челябинская государственная медицинская академия, 454092, Челябинск, ул. Воровского, 64

тип), а также сосудистом (третий тип) полюсах и клеток с единичными гранулами (четвертый тип клеток) [7]. Для более детальной оценки уровня функциональной активности популяции ПФК была проведена оценка их субпопуляционного состава по степени дегрануляции. При этом подсчитывали число недегранулирующих клеток (первый тип), клеток со слабой (второй тип), умеренной (третий тип) и значительной (четвертый тип) дегрануляцией. Подсчет производили при увеличении 400. Изучали весь срез ЩЖ, затем по пропорции определяли количество клеток на условной единице площади. При обработке полученных результатов использовали методы вариационной статистики: определение среднего арифметического и его стандартной ошибки. Значимость различий оценивали с помощью непараметрического критерия Манна—Уитни.

Результаты исследования. У потомства интактных животных после рождения наблюдается постепенное увеличение количества ПФК в ЩЖ, вплоть до конца периода полового созревания (45-е сутки), а затем, к периоду половой зрелости (60-е сутки), их содержание снижается и достигает минимального значения. У подопытных крысят число ПФК резко увеличивается к подсосному периоду с $1,8 \pm 0,5$ до $17,2 \pm 0,7$ соответственно, после чего их содержание уменьшается до $14,4 \pm 0,8$ в период половой зрелости; исключение составили 45-е сутки постнатального развития. Обращает на себя внимание тот факт, что во все сроки исследования число ПФК у подопытных животных значимо увеличено по сравнению с контролем, за исключением периода новорожденности.

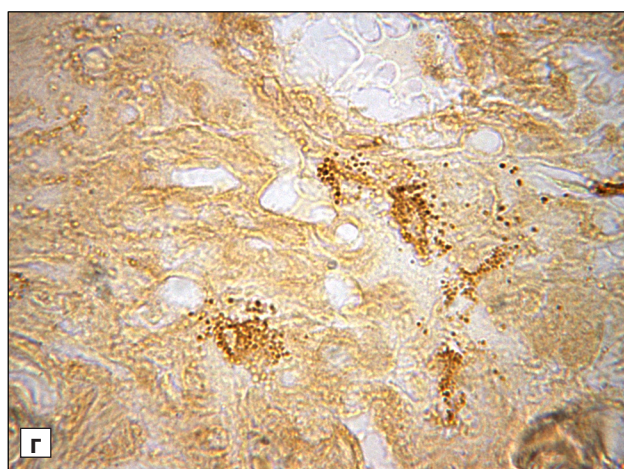
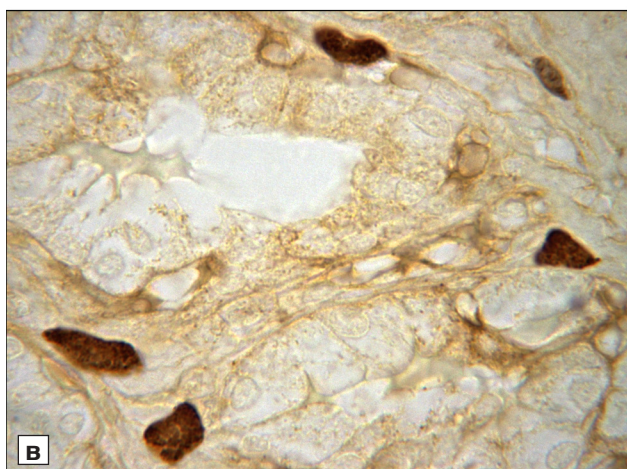
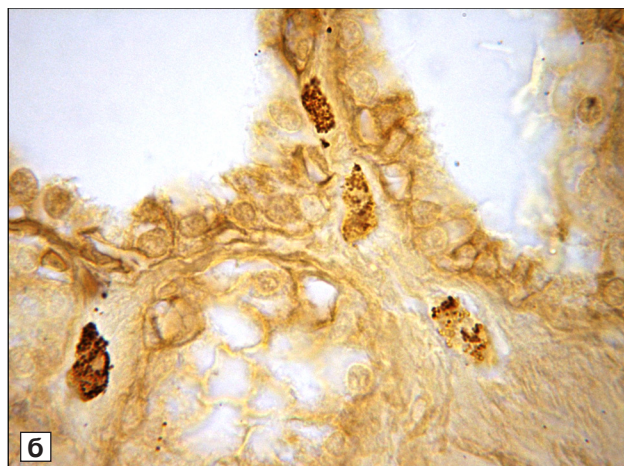
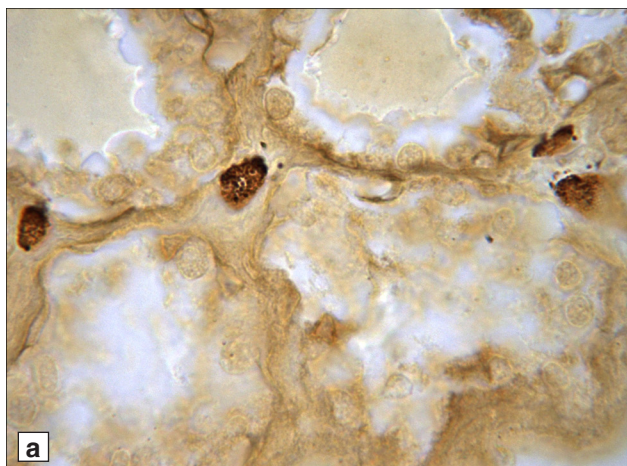
У животных контрольной группы во все возрастные периоды в популяции преобладают умеренно гранулированные ПФК (рисунк, а).

При этом с возрастом наблюдается незначительное увеличение числа сильно гранулированных форм, тогда как содержание опустошенных клеток увеличивается лишь к 15-м суткам, после чего неуклонно снижается. Количество ПФК третьего типа преобладает над числом клеток второго типа во все сроки исследования, за исключением периода новорожденности, и при этом остается приблизительно на одном уровне. У подопытных животных в ЩЖ, так же как и в контроле, преобладают умеренно гранулированные ПФК, но при этом возрастает доля опустошенных клеток (см. рисунок, б). Число умеренно и сильно гранулированных форм с возрастом остается приблизительно на одном уровне и лишь к 30-м суткам увеличивается содержание последних. Содержание опустошенных клеток после рождения возрастает с 25 ± 5 у 1-суточных животных до $35,5 \pm 1,1$ у половозрелых крыс, за исключением 30-х суток. При этом количество клеток с преимущественным расположением гранул на тироцитарном (второй тип) и сосудистом (третий тип) полюсах

максимально именно в начале периода полового созревания. При этом по сравнению с контролем содержание клеток второго типа снижено, вновь за исключением 30-х суток, тогда как число клеток с преимущественным расположением гранул на сосудистом полюсе в большинстве сроков исследования, наоборот, увеличено.

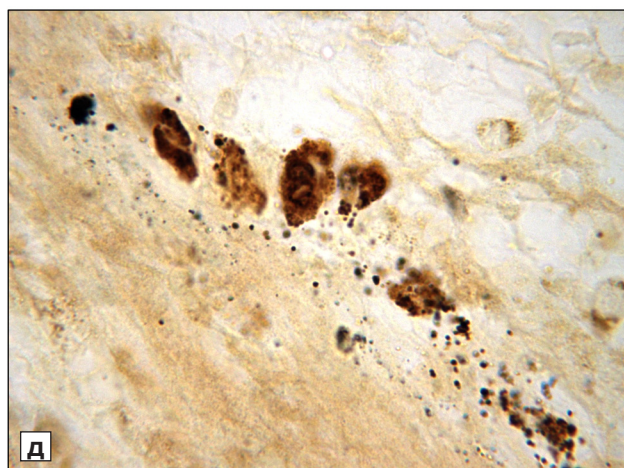
При анализе субпопуляционного состава ПФК по степени дегрануляции были получены следующие данные. У потомства интактных животных в популяции преобладают клетки с незначительной дегрануляцией, при этом довольно высоко содержание недегранулирующих форм (см. рисунок, а, в). В то же время число клеток с умеренной и значительной степенью дегрануляции невелико. У крысят подопытной группы, так же как в контроле, преобладают клетки с незначительной дегрануляцией, причем их содержание по сравнению с контролем увеличивается в большинстве сроков исследования. При этом вырастает количество умеренно и сильно дегранулирующих форм (см. рисунок, г). Содержание недегранулирующих ПФК с возрастом снижается с $18,2 \pm 2,6$ у 1-суточных крысят до $8,2 \pm 1,3$ у 60-суточных животных, исключение составили 30-е сутки исследования. Количество клеток с незначительной дегрануляцией также с возрастом снижается, за исключением периода полового созревания. Доля умеренно дегранулирующих клеток с возрастом увеличивается, достигая максимума к периоду половой зрелости, при этом наибольшее возрастание числа клеток выявлено от новорожденности к 15-м суткам исследования ($9,1 \pm 1,2$ и $23,1 \pm 1,0$ соответственно). Интересная тенденция выявлена при изучении клеток с сильной степенью дегрануляции. У новорожденных крысят данный тип клеток не выявлен, в то же время у 15-суточных животных их содержание довольно высоко. В период полового созревания популяция данных форм клеток стабилизируется, но уже к 60-м суткам она достигает своего максимума (см. рисунок, д). Полученные цифры согласуются с данными о максимальном содержании в данный возрастной период опустошенных ПФК.

Обсуждение полученных данных. У потомства самок крыс с хроническим поражением печени, вызванным введением D-галактозамина, наблюдается увеличение абсолютного количества ПФК ЩЖ по сравнению с контролем, при этом повышается их секреторная активность, одним из показателей которой в популяции ПФК ЩЖ является уровень и характер их гранулярного насыщения [7]. В частности, для подопытных животных характерно смещение популяции ПФК в сторону опустошенных и сильно дегранулирующих



Щитовидная железа крыс контрольной группы (а, в) и рожденных самками с хроническим поражением печени, вызванным введением D-галактозамин гидрохлорида (б, г, д).

а — умеренно гранулированные парафолликулярные клетки (ПФК) со слабой дегрануляцией у 15-суточных животных; б — умеренно гранулированные и опустошенные ПФК у 60-суточных животных; в — недегранулирующие ПФК у 15-суточных животных; г — ПФК с умеренной и сильной дегрануляцией у 30-суточных животных; д — ПФК с умеренной и сильной дегрануляцией у 60-суточных животных. Импрегнация нитратом серебра по Гримелиусу, в модификации Никонова. Об 40, ок. 10



щих форм, но популяция из состояния равновесия не выходит, поскольку во все сроки исследования в ней преобладают умеренно гранулированные клетки со слабой степенью дегрануляции [7]. При этом повышение функциональной активности ПФК ЩЖ может быть связано с необходимостью выброса кальцитонина для регуляции кальциевого обмена на уровне всего организма. Косвенным подтверждением данного предположения может служить тот факт, что у животных данной экспериментальной группы выявлено

повышение функциональной активности фолликулярных клеток ЩЖ [9], а значит, есть вероятность усиления процессов резорбции костной ткани и повышения в крови концентрации кальция [8, 11]. Кроме того, животные, рожденные от матерей с подобной патологией, имеют изменения репродуктивной и эндокринной систем, а значит, есть вероятность гормональной дисфункции, влияющей на обмен, в том числе кальция. Помимо кальцитонина, ПФК могут секретировать и другие биологически активные вещества, действующие

паракринно и обладающие вазоактивными, противовоспалительными, антипролиферативными, а, по некоторым данным, пролиферативными и другими свойствами, направленными на регуляцию внутриорганного гомеостаза, измененного, как упоминалось выше, у данных экспериментальных животных [1, 4, 5, 7, 8, 12, 14]. Так как содержание клеток с гранулами на тироцитарном полюсе в большинстве сроков исследования, по сравнению с контролем, снижено, а клеток с преимущественным расположением гранул на сосулистом полюсе, наоборот, увеличено, это свидетельствует о выбросе клетками биологически активных веществ именно в ткань органа [7, 8]. И только в период полового созревания высока доля ПФК, выбрасывающих биологически активные вещества в кровь, но при этом данный период характеризуется снижением интенсивности дегрануляции и преобладанием процессов синтеза, так как одновременно увеличивается число сильно гранулированных и снижается доля опустошенных клеток, а также возрастает содержание недегранулирующих и слабо дегранулирующих форм. Таким образом, в условиях эксперимента патология печени материнского организма, обусловленная введением D-галактозамина, вызывает повышение функциональной активности ПФК ЩЖ у потомства. В то же время, их популяция устойчива, поскольку клетки не только активно выделяют свое содержимое, но и интенсивно его синтезируют, поддерживая ее, таким образом, в состоянии равновесия.

ЛИТЕРАТУРА

- Безденежных А. В. Закономерности организации парафолликулярных эндокриноцитов щитовидной железы собак при различных режимах бега. *Морфология*, 2006, т. 129, вып. 4, с. 21.
- Венгеровский А. И. и Саратиков А. С. Метаболизм липидов и функциональное состояние печени при интоксикации D-галактозамином у крыс. *Пат.физиол.*, 1988, № 3, с. 52–54.
- Вторушина Е. В. и Брюхин Г. В. Особенности становления фолликулогенеза в яичниках у потомства матерей с хроническим поражением гепатобилиарной системы в условиях эксперимента. *Пробл. репродукции*, 2005, № 2, с. 23–26.
- Западнюк И. П., Западнюк В. И. и Захария Е. А. Лабораторные животные, их разведение, содержание и использование в эксперименте. Киев, Вища школа, 1983.
- Кветной И. М. APUD-система (структурно-функциональная организация, биологическое значение в норме и патологии). *Успехи физиол. наук*, 1987, т. 18, № 1, с. 84–102.
- Кветной И. М. и Южаков В. В. Окрашивание ткани эндокринных желез и элементов АПУД-системы. В кн.: *Микроскопическая техника: Руководство*. М., Медицина, 1996, с. 375–418.
- Павлов А. В. Цитологический анализ популяции парафолликулярных клеток щитовидной железы. *Цитология*, 1985, т. 27, № 11, с. 1300–1303.
- Павлов А. В. Морфометрический анализ околощитовидных желез и С-клеток щитовидной железы при длительном введении трийодтиронина и мерказолила. *Пробл. эндокринол.*, 1987, № 5, с. 71–73.
- Соляникова Д. Р. и Брюхин Г. В. Морфофункциональная характеристика щитовидной железы потомства самок крыс с хроническим экспериментальным поражением печени. В кн.: *Роль патологии печени матери в нарушении развития реактивности и резистентности потомства в условиях эксперимента*. Челябинск, изд. ЧГМА, 2009. вып. 2, с. 45–48.
- Шехтман М. М. Руководство по экстрагенитальной патологии у беременных. М., Триада-Х, 1999.
- Filipović B. The thyroid C cells of ovariectomized rats treated with estradiol. *Histochem. Cell Biol.*, 2003, v. 120, p. 409–414.
- Martin-Lacave I. Comparative immunohistochemical study of normal, hyperplastic and neoplastic C cells of the rat thyroid gland. *Cell Tissue Res.*, 2002, v. 309, p. 361–368.
- Mieke Joker A. Immunopathology of acute galactosamine hepatitis in rats. *Hepatology*, 1990, v. 11, № 4, p. 622–627.
- Toda Sh., Aoki Sh., Suzuki K. et al. Thyrocytes, but not C cells, actively undergo growth and folliculogenesis at the periphery of thyroid tissue fragments in three-dimensional collagen gel culture. *Cell Tissue Res.*, 2003, v. 312, p. 281–289.

Поступила в редакцию 13.12.2012

Получена после доработки 26.01.2013

CHARACTERISTICS OF THYROID PARAFOLLICULAR CELLS IN THE OFFSPRING OF FEMALE RATS WITH CHRONIC EXPERIMENTAL LIVER INJURY AT DIFFERENT STAGES OF POSTNATAL ONTOGENESIS

D. R. Solyannikova and G. V. Briukhin

Structural and functional features of thyroid gland parafollicular cell (PFC) population were studied in 48 animals born to females with chronic experimental liver injury induced by injection of D-galactosamine hydrochloride. Using Grimelius silver nitrate impregnation method, PFC numbers were calculated and their subtypes according to their granular content and degranulation degree determined. Compared with the animals of the control group, the increase of PFC number per unit area together with the number of degranulated cells and the cells with a predominant location of granules on vascular pole was found. At the same time, the increase in the number of cells with moderate and significant degranulation was detected. The changes observed may be indicative of increased functional activity of PFC population in the experimental animals

Key words: *thyroid gland, parafollicular cells, chronic liver injury, female rat offspring*

Department of Histology, Cytology and Embryology, Chelyabinsk State Medical Academy