

С.А. Калашикова, И.М. Кузнецов¹, А.Я. Почепцов, Л.В. Полякова и В.В. Новачадов¹

МОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ И УЛЬТРАСТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ Фолликулярного эпителия щитовидной железы при экспериментальном хроническом эндотоксикозе

Лаборатория клинической фармакологии (зав. — канд. мед. наук А.В. Разваляева) Волгоградского научного центра РАМН;
¹ кафедра патологической анатомии (зав. — чл.-кор. РАМН проф. В.Б. Писарев) Волгоградского государственного медицинского университета, e-mail: svetelina@tele-kom.ru

Целью настоящего исследования явилось изучение количественных характеристик и ультраструктурных преобразований в фолликулярном эпителии щитовидной железы при моделировании хронического эндотоксикоза у крыс. Эндотоксикоз моделировали сочетанным введением тетрахлорметана перорально и бактериального липополисахарида *S. typhimurium* в виде циклов длительностью до 90 сут. Выявлены ультраструктурные изменения, которые зависели от длительности эндотоксикоза и затрагивали все внутриклеточные компартменты. О нарушении синтеза тиреоидных гормонов свидетельствовало усиление синтетической функции эндоплазматической сети на фоне снижения количества пузырьков и дефицита коллоида. Мозаичность расположения участков гиперактивности и истощения в фолликулярных эндокриноцитах при хроническом эндотоксикозе является ультраструктурным отражением нарушений синтетических процессов.

Ключевые слова: щитовидная железа, фолликулярный эндокриноцит, электронная микроскопия, эндотоксикоз.

Щитовидная железа (ЩЖ) относится к органам, отвечающим стереотипными реакциями на многочисленные изменения в организме, равно как и на воздействия патогенных факторов внешней среды [2, 10]. Морфологические данные свидетельствуют о высокой распространенности доклинических, а иногда и прижизненно нераспознанных выраженных изменений в ЩЖ у жителей зон с повышенной токсигенной нагрузкой, а также у людей с длительной эндогенной интоксикацией [1, 9].

Любые отклонения от нормы и клеточные перестройки паренхимы ЩЖ могут быть проявлениями патологических нарушений и усугубить течение хронического эндотоксикоза (ХЭТ), а могут являться признаками адаптивной перестройки органа и иметь положительные последствия. Для выработки стратегии, тактики диагностики, лечения и профилактики заболеваний ЩЖ, ассоциированных с хронической эндогенной интоксикацией, необходимо уточнить базовые представления о влиянии этого процесса на ее структурно-функциональное состояние [4, 5]. Целью настоящего исследования явилось изучение морфометрического и ультраструктурного преобразования фолликулярного эпителия ЩЖ при ХЭТ.

Материал и методы. При выполнении работы были соблюдены все пункты нормативного документа «Правила проведения работ с использованием экспериментальных животных». Исследование проведено на 36 нелинейных крысах-самках, массой 201 ± 11 г, с синхронизованным эстральным циклом. ХЭТ моделирование по схеме, включающей ежедневное введение 0,5 мл/кг тетрахлорметана перорально в составе сырно-масляной пасты натошак в течение 5 сут,

внутрибрюшинное введение 0,2 мг/кг липополисахарида *S. typhimurium* (Sigma, США) на 6-е сутки и перерывом на 7-е сутки. Такие циклы проводили в течение 30, 60 и 90 сут (по 10 особей на каждую временную точку), после чего животных выводили из эксперимента передозировкой нембутала (100 мг/кг) [4]. Контролем служили 6 интактных крыс.

ХЭТ верифицировали по следующим биохимическим показателям: содержанию в плазме крови веществ средней молекулярной массы и их олигопептидных фракций, концентрации малонового диальдегида, активности ацилазы печени и почек [6], а также наличия характерных патоморфологических изменений в печени (объемной доли гепатоцитов, соединительной ткани, размера ядер звездчатых макрофагов) и в почках (объемной доли ткани интерстиция, мочевого пространства, канальцевого индекса) [4].

Для проведения морфологического исследования материал фиксировали в нейтральном 10% формалине, заливали в парафин по стандартной методике, срезы окрашивали гематоксилином–эозином. При морфометрии ЩЖ определяли следующие параметры: относительный объем фолликулярного и интерфолликулярного эпителия, коллоида, стромы и сосудов, средний наружный диаметр фолликула, высоту клеток фолликулярного эпителия и объем их ядер. Размерности и показатели объемных долей рассчитывали с использованием автоматизированного компьютерного комплекса Видеотест Морфо 4.0 (ТелеМедТехника, Россия), бинаризацию масок проводили при обучении программы с учетом показателей яркости, RGB-спектра и размеров микрообъектов. Степень повреждения оценивали по соотношению неизмененных клеток, эндокриноцитов в состоянии повышенной функциональной секреции, крайнего истощения, дистрофии и аутолиза [7].

Для ультрамикроскопического исследования животных под нембуталовым наркозом подвергли эвтаназии путем внутривенной инфузии 4% раствора параформа на 0,1 М каодилатном буфере (суправитальная фиксация). Дофиксацию кусочков размером 1 мм³ производили в том же составе в течение 12 ч при комнатной температуре. Осмиривание,

обезвоживание, заливку (эпон — аралдит) и контрастирование проводили по общепринятым методикам.

Математическая обработка проводилась непосредственно из общей матрицы данных Excel 7.0 (Microsoft, США) с привлечением возможностей программ Statgraph 5.1 (Microsoft, США), Аркада (Диалог-МГУ, Россия) и включала определение показателей средней, ее среднеквадратичного отклонения и ошибки репрезентативности [3].

Результаты исследования. Установлено, что ЩЖ у крыс контрольной группы имела типичный фолликулярно-коллоидный тип строения, присущий эутиреоидному состоянию. На 30-е сутки ХЭТ ЩЖ сохраняла нормопластический тип строения. Однако местами обнаружена краевая вакуолизация коллоида, диффузные геморрагические явления в интра- и экстрафолликулярном пространстве. К 60-м суткам гистологическая картина ЩЖ характеризовалась отчетливо выраженным полиморфизмом — чередованием гипертрофированных, с уплощенным фолликулярным эпителием и сдавленных фолликулов. Эпителий подвергался дегенерации и слущиванию в просвет фолликулов, содержащих эозинофильный коллоид. На 90-е сутки ХЭТ ЩЖ имела паренхиматозный тип строения: низкое содержание бледного, местами вакуолизированного коллоида в фолликулах, происходило уменьшение их размеров. Наблюдалось образование «дочерних» фолликулов с уплощенными ядрами и частично вакуолизированной цитоплазмой. По мере увеличения длительности эндогенной интоксикации при морфометрии было отмечено значимое уменьшение размеров фолликулов, уплощение фолликулярного эпителия, уменьшение диаметра ядер его клеток в 1,4 раза, снижение количества коллоида в 1,8 раза (таблица).

При электронно-микроскопическом исследовании фолликулярных эндокриноцитов ЩЖ определялось ядро с неровными контурами (рисунок, а). В цитоплазме визуализировались расширенные цистерны эндоплазматической сети (ЭПС), что характеризовало высокую активность синтетического процесса. В области, прилежащей к плазмолемме, обращенной в просвет фолликула,

имелись мелкие пузырьки, в дальнейшем участвовавшие в формировании коллоида. Определялись также мелкие митохондрии, отдельные лизосомы. На поверхности, обращенной в просвет фолликула, имелись многочисленные микроворсинки. Содержимое фолликула было гомогенным, умеренной электронной плотности.

На 30-е сутки ХЭТ имело место некоторое расширение цистерн ЭПС (по типу «вспенивания»). Кроме этого, в центре цитоплазмы наблюдались пузырьки, окруженные мембраной, с содержимым высокой электронной плотности, по размерам порой значительно превосходящие находящиеся в цитоплазме митохондрии (см. рисунок, б). В просвете фолликула определялись мелкие грозди из электронно-прозрачных пузырьков, расположенных непосредственно за микроворсинками.

На 60-е сутки эксперимента в цитоплазме фолликулярных эндокриноцитов наблюдалось чрезвычайно резкое расширение цистерн ЭПС на фоне уменьшения количества пузырьков (см. рисунок, в). Расширенные цистерны с умеренно электронно-плотным содержимым заполняли всю цитоплазму. В то же время, в строении комплекса Гольджи не отмечалось признаков повышения функциональной активности. Данная картина характеризовала гиперсекреторные процессы в ЩЖ и избыточное накопление тиреоидных гормонов в фолликулах.

На 90-е сутки выявлено тотальное расширение ЭПС, с частичной дегрануляцией ее мембран (см. рисунок, г). Практически не определялся комплекс Гольджи, количество секреторных гранул резко снизилось, они локализовались преимущественно под микроворсинками.

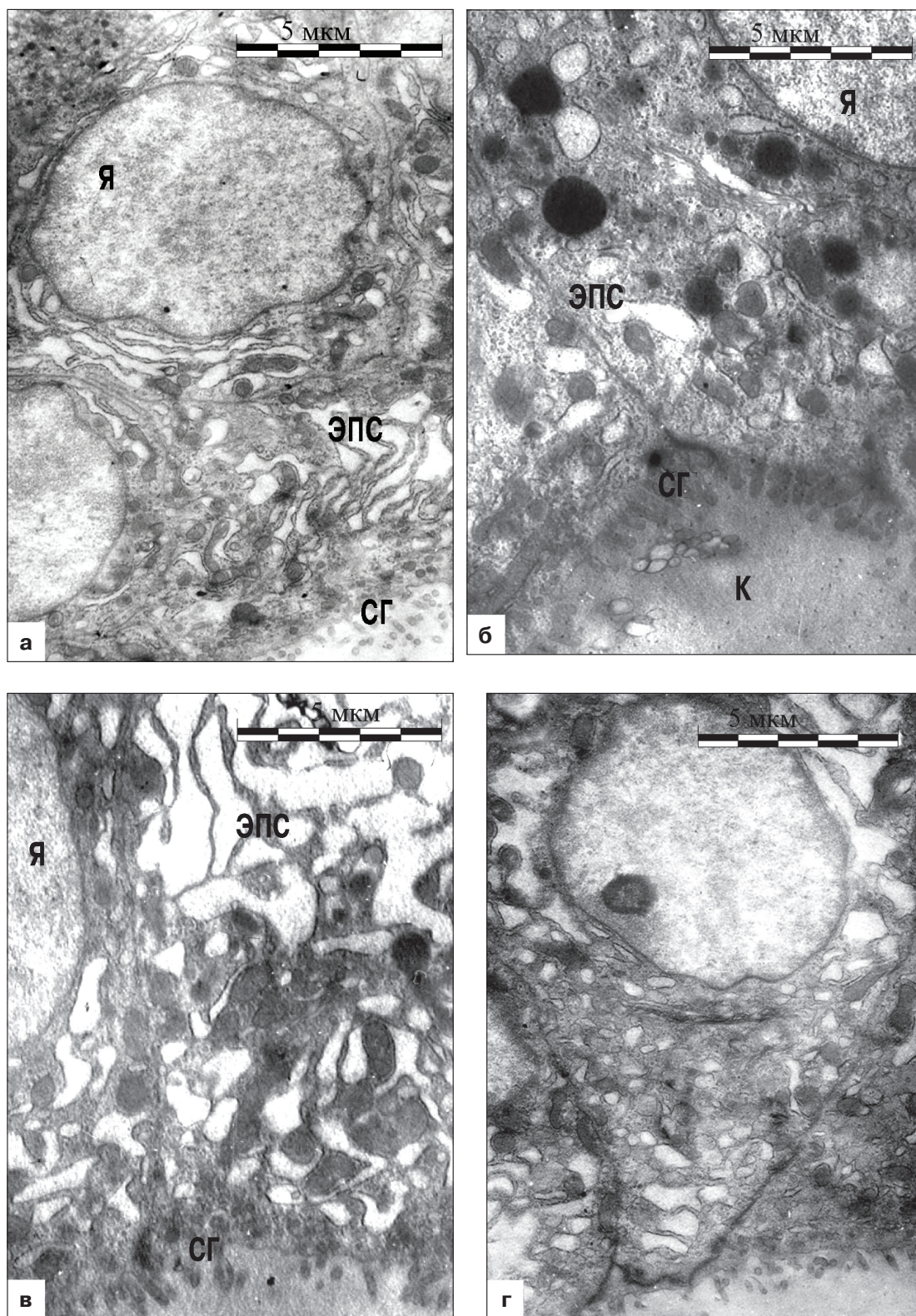
Обсуждение полученных данных. Фолликулярно-коллоидный тип строения ЩЖ, присущий эутиреоидному состоянию, сочетается с относительно высокой активностью синтеза белка тиреоглобулина и ультрамикроскопически характеризуется значительным развитием синтетического аппарата тироцитов. В цитоплазме отдельных тироцитов у крыс контрольной группы

Морфометрические показатели щитовидной железы у крыс при хроническом эндотоксикозе (ХЭТ) в зависимости от сроков эксперимента ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$)

Морфометрические показатели	Контроль (n=6)	Сроки эксперимента, сут		
		30 (n=10)	60 (n=10)	90 (n=10)
Средний наружный диаметр фолликула, мкм	124±12	120±21	114±20*	92±5*#
Высота клеток фолликулярного эпителия, мкм	31±9	24±5*	28±15*	15,2±2,3*#
Объем ядер клеток фолликулярного эпителия, мкм ³	742±61	351±22*	257±20*#	247±19*
Относительный объем, %: коллоида,	18,4±0,3	17,2±0,3	19,1±1,1	10,2±0,8*#
фолликулярного эпителия	73,3±2,5	72±9	52±7*#	61,3±1,9*

* Различия значимы по сравнению с контролем при $P < 0,05$.

Различия значимы по сравнению с данными предыдущего срока ХЭТ при $P < 0,05$.



Ультраструктура фолликулярных эндокриноцитов щитовидной железы у intactных крыс (а) и при хронической эндогенной интоксикации (ХЭТ).

б — ХЭТ 30 сут; в — ХЭТ 60 сут; г — ХЭТ 90 сут; Я — ядро; ЭПС — эндоплазматическая сеть; СГ — секреторные гранулы; К — коллоид.

присутствовали умеренно расширенные цистерны ЭПС, что свидетельствовало о нормальном синтезе гликопротеида. Наличие в коллоиде пузырьков являлось отражением конечных этапов синте-

за тиреоглобулина, происходящих в комплексе Гольджи, и расценивалось как норма.

В течение эндогенной интоксикации во взаимосвязи и с параллельным нарастанием выражен-

ности ХЭТ происходит повреждение и прогрессирующая убыль фолликулярного эпителия в ЩЖ. Это проявляется на 30-е сутки преобладанием явлений раздражения, стимуляцией и крайним истощением отдельных эндокриноцитов, дистрофией и некрозом единичных клеток при сохранении общей структуры железы. В дальнейшем прогрессирующие повреждения эндокриноцитов выражаются в зональной атрофии фолликулярного эпителия. При этом на самых поздних стадиях ХЭТ присутствуют эндокриноциты в состоянии гиперстимуляции и, предположительно, гиперфункции.

Полученные нами данные частично совпадают с имеющимися в литературе сведениями о характере структурно-функциональных преобразований фолликулярного эпителия ЩЖ при хроническом воздействии токсических агентов [5, 7].

На ультраструктурном уровне выявлены различия в глубине и характере изменений, происходящих в фолликулярных эндокриноцитах. Максимальные изменения были зарегистрированы в ЭПС, тотальное расширение цистерн, деформация и уменьшение электронной плотности которой свидетельствует о повреждении синтетического аппарата эндокриноцитов под действием эндогенных токсических соединений. Аналогичные изменения цистерн ЭПС описаны в фолликулярных эндокриноцитах ЩЖ белых мышей, возникающие при воздействии препарата циклофосфана, что было расценено авторами как нарушение синтеза тиреоглобулина или его транспорта в просвет фолликула [8].

В результате проведенных исследований установлено, что при ХЭТ происходит нарушение синтеза тиреоидных гормонов, заключающееся в усилении синтетической функции ЭПС на фоне снижения количества пузырьков и дефицита коллоида. По-видимому, выявленные нарушения возникают не на уровне начального синтеза тиреоглобулина, а в процессе его транспортировки в комплекс Гольджи и непосредственно в нем, при формировании конечного тиреоглобулина.

Сопоставление структурных изменений в ЩЖ на различных этапах исследования свидетельствует о наличии при ХЭТ ее значительной тканевой перестройки и субстрата гормональной дисфункции фолликулярных эндокриноцитов. На ультрамикроскопическом уровне они заключаются в сосуществовании участков с повышенной функциональной активностью и участков с явлениями истощения даже в пределах одной клетки.

ЛИТЕРАТУРА

1. Зайратьянц О.В., Фадеев В.В., Белозерковская М.М. и др. Нозологическая структура узловых образований щитовидной железы по данным аутопсий. Арх. пат., 2004, т. 66, № 6, с. 24–28.

2. Назаренко Г.И. и Кишкун А.А. Клиническая оценка результатов лабораторных исследований. М., Медицина, 2000.
3. Новиков Д.А. и Новочадов В.В. Статистические методы в экспериментальной биологии и медицине. Волгоград, Изд-во ВолГМУ, 2005.
4. Новочадов В.В. и Писарев В.Б. Эндотоксикоз: Моделирование и органопатология. Волгоград, Изд-во ВолГМУ, 2005.
5. Раскоша О.В. и Ермакова О.В. Состояние щитовидной железы полевок, обитающих на территории бывшего радиевого промысла. В кн.: Материалы II Всероссийской конференции с международным участием «Клинико-морфологические аспекты эндокринопатий». Белгород, Изд-во БГУ, 2006, с. 104–107.
6. Фролов В.И., Жуков С.А. и Новочадов В.В. Способ определения токсичности химических веществ. А. с. СССР № 1163264; Опубл. в Бюлл. изобр., 1991, № 39.
7. Хмельницкий О.К., Третьякова М.С. и Киселев А.В. Морфофункциональная характеристика щитовидной железы плодов и новорожденных по секционным материалам Санкт-Петербурга. Арх. пат., 2000, т. 62, № 4, с. 19–27.
8. Юкина Г.Ю., Неворотин А.И. и Быков В.Л. Ультраструктурные и метаболические характеристики тироцитов при действии циклофосфана. Морфология, 2004, т. 125, вып. 1, с. 66–70.
9. Damotte D., Goulvestre C., Charreire J. and Carnaud C. LPS and Freund's adjuvant initiate different inflammatory circuits in experimental autoimmune thyroiditis. Eur. Cytokine Netw., 2003, v. 14, № 1, p. 52–59.
10. Dickman P.W., Holm L.E., Lundell G. et al. Thyroid cancer risk after examination with ^{131}I : a population-based cohort study in Sweden. Int. J. Cancer, 2003, v. 106, № 4, p. 580–587.

Поступила в редакцию 23.02.08

Получена после доработки 20.06.08

QUANTITATIVE MICROSCOPIC AND ULTRAMICROSCOPIC ALTERATIONS OF FOLLICULAR EPITHELIUM OF THYROID GLAND IN EXPERIMENTAL CHRONIC ENDOTOXICOSIS

Kalashnikova S.A., Kuznetsov I.M., Pocheptsov A.Ya., Polyakova L.V. and Novochadov V.V.

The goal of this work was to study the quantitative characteristics and the ultrastructural changes of thyroid gland follicular epithelium in the model of chronic endotoxycosis in rats. Endotoxycosis was induced by a combined peroral administration of tetrachlorinated methane and *S. typhimurium* bacterial lipopolysaccharide as the cycles of up to 90 days duration. The ultrastructural changes were demonstrated, that were dependent upon the endotoxycosis duration and affected all the intracellular compartments. The increased synthetic activity of rough endoplasmic reticulum together with the decreased number of vesicles and colloid deficit were indicative of the disruption of thyroid hormone synthesis. The mosaic pattern of the areas of functional hyperactivity and exhaustion in follicular cells during chronic endotoxycosis is the ultrastructural reflection of disorders of synthetic processes.

Key words: *thyroid gland, follicular cell, electron microscopy, endotoxycosis.*

Laboratory of Clinical Pharmacology, Volgograd RAMS Scientific Center, Department of Pathological Anatomy, Volgograd State Medical University