

С.А.Кашченко  
М.В.Гончарова

ГЗ «Луганский государственный медицинский университет», Луганск

**Ключевые слова:** щитовидная железа, крысы, ультрамикроскопия, иммуносупрессия, циклофосфан.

Надійшла: 12.09.2013

Прийнята: 19.10.2013

УДК: 591.444:615.27

## УЛЬТРАМИКРОСКОПИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ КРЫС ПОСЛЕ ИММУНОСУПРЕССИИ

*Исследование проведено в рамках научно-исследовательской работы «Особенности строения органов иммунной и эндокринной систем при иммуностимуляции и иммуносупрессии» (номер государственной регистрации 0112U000096).*

**Реферат.** Значительный контингент больных получает иммунодепрессанты при лечении аутоиммунных, аллергических заболеваний, при трансплантации органов и тканей. В связи с этим актуальным является исследование морфоактивности щитовидной железы при иммунодепрессии, вызванной введением циклофосфана. Цель – изучить субмикроскопические изменения структуры щитовидной железы после однократного введения циклофосфана в большой дозировке. Исследование проведено на 24 крысах-самцах с исходной массой  $180 \pm 10$  г, которые были разделены на 4 группы. В первую и вторую группы входили животные, которым однократно вводился циклофосфан в дозировке 200 мг/кг. Третью и четвертую группы составили контрольные (интактные) животные. Забор материала проводился через 3 и 30 суток после инъекции циклофосфана в соответствии с фазами иммунного ответа. В результате проведенного электронномикроскопического исследования выявлено, что в короткие сроки наблюдения (3 суток) в структуре щитовидной железы появились выраженные изменения со стороны органелл тироцитов и стромы органа. Через 30 суток после инъекции циклофосфана в железе развивались реактивные изменения, направленные на нормализацию её структуры. В перспективе планируется изучить электронномикроскопическое строение щитовидной железы животных после коррекции циклофосфан-индуцированной иммуносупрессии с помощью имунофан.

**Morphologia.** – 2013. – Т. VII, № 3. – С. 49-53.

© С.А.Кашченко, М.В.Гончарова, 2013

✉ kashchenko\_s@list.ru

**Kashchenko S.A., Goncharova M.V. Submicroscopic changes in the thyroid gland of rats after the immunosuppression.**

**ABSTRACT. Background.** A significant number of patients receive immunosuppressive drugs for the treatment of autoimmune, allergic diseases, organ and tissue transplantation. In this regard, the study of reactivity of the thyroid gland during immunosuppression caused by the introduction of cyclophosphamide is of current interest. **Objective.** To investigate the submicroscopic changes in the thyroid gland at the single administration of cyclophosphan in high doses. **Methods.** The research was conducted on 24 male rats with an initial body weight of  $180 \pm 10$ , which were divided into 4 groups. The animals of 1<sup>st</sup> and the 2<sup>nd</sup> groups received cyclophosphan in a dose of 200 mg/kg body weight. The 3<sup>rd</sup> and the 4<sup>th</sup> groups included control (intact) animals. The material was taken on 3<sup>rd</sup> and 30<sup>th</sup> days after the injection of cyclophosphan in accordance with the immune response phases. **Results.** The conducted electron microscopy research revealed significant changes of thyrocyte organelles and thyroid gland stroma during the short term of observation (3 days). After 30 days of cyclophosphan injection reactive changes directed at the normalization of the gland structure took place. **Conclusion.** It is planned further to investigate the ultrastructure of the thyroid gland of animals after correction of cyclophosphan-induced immunosuppression with imunofan.

**Keywords:** thyroid gland, rats, ultramicroscopy, immunosuppression, cyclophosphan.

### Citation:

Kashchenko SA, Goncharova MV. [Submicroscopic changes in the thyroid gland of rats after the immunosuppression]. *Morphologia*. 2013; 7(3):49-53. Russian.

### Введение

Патология со стороны щитовидной железы в значительной мере определяется не только воздействием экзогенных и эндогенных факторов, но и изменениями со стороны иммунной системы. Нарушения в работе иммунной системы в

настоящее время являются одной из ведущих проблем отечественного здравоохранения [1; 2]. В связи с развитием неблагоприятной экологической ситуации в Украине в последнее время значительно увеличился рост эндокринной патологии. Известно, что тиреоидные гормоны усили-

вают реакции гуморального иммунитета, активируют фагоцитарную активность лейкоцитов, стимулируют моноциты периферической крови, повышая их способность к созреванию и дифференцировке, регулируют функцию натуральных киллеров [3; 4]. По этой причине нарушения функции щитовидной железы вызывают ряд изменений в течение иммунных процессов. Вместе с тем, работ морфологического направления, в которых приводились бы данные об особенностях ультраструктуры органа при изменённом иммунном статусе, в доступной литературе встречается единичное количество, результаты, которые в них приводятся, нередко противоречивы. В то же время в клинике значительный контингент больных получает иммунодепрессанты при лечении аутоиммунных, аллергических заболеваний, при трансплантации органов и тканей [5]. В связи с этим актуальным является исследование морфореактивности щитовидной железы при иммунодепрессии, вызванной введением циклофосфана.

**Целью** исследования явилось электронномикроскопическое изучение структуры щитовидной железы крыс, которым вводили циклофосфан однократно в большой дозировке.

#### **Материалы и методы**

Эксперимент выполнен в сертифицированной морфологической лаборатории кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии ГУ «Луганский государственный медицинский университет». Материалом для исследования служили щитовидные железы беспородных крыс-самцов массой 180±10 г. В эксперименте использовано 24 крысы. Животные были разделены на четыре группы. В первую и вторую группы входили животные, которым однократно вводили циклофосфан (200 мг/кг). Третью и четвертую группы составили контрольные (интактные) животные. Сроки наблюдения – 3 и 30 суток с момента введения циклофосфана. Содержание и уход за животными осуществляли согласно Закону Украины «Про захист тварин від жорстокого поводження» № 1759-VI от 15.12.2009 [6] и с учетом принципов биоэтики, изложенных в Хельсинкской декларации. После забора материала проводили ультрамикроскопическое исследование щитовидной железы.

#### **Результаты и их обсуждение**

По данным ультрамикроскопического исследования щитовидная железа животных контрольной группы состоит из замкнутых фолликулов, которые разделены прослойками соединительной ткани. Просвет фолликулов заполнен тонкозернистым коллоидом. Тироциты в основном имеют кубическую форму, но также встречаются и единичные призматические клетки. На апикальной поверхности клеток расположены микроворсинки. Базальная плазмолемма тироцитов формирует различные по численности и вы-

раженности складки, вдающиеся в цитоплазму. Ядра тироцитов округлой или овальной формы располагаются в базальной части клеток, содержат 1-2 электронноплотных ядрышка. Нуклеоплазма богата зухроматином, гетерохроматин узкой полоской локализуется возле нуклеолемы. В цитоплазме хорошо развита гранулярная эндоплазматическая сеть, митохондрии, комплекс Гольджи. Мембраны ГЭПС занимают значительную часть цитоплазмы и располагаются параллельно друг другу в базальной части и вокруг ядра. Комплекс Гольджи находится над верхним полюсом ядра. Удлиненные митохондрии выявляются повсеместно, их кристы ориентированы поперечно и находятся в матриксе средней электронной плотности. Свободные рибосомы и полисомы в большом количестве равномерно рассеяны по всей цитоплазме. Секреторные гранулы умеренной электронной плотности локализуются в апикальной части тироцитов. Кроме них в этой части клетки различимы капли коллоида различной электронной плотности.

Кровеносные капилляры тесно контактируют с базальной поверхностью тироцитов (рис. 1). Кроме обычных тироцитов в стенке фолликула наблюдаются единичные С-клетки (рис. 2). Они имеют округлую или полигональную форму и светлую цитоплазму, в которой содержится множество мелких гранул, но незначительное количество органелл. В паренхиме щитовидной железы между фолликулами находится интерфолликулярный эпителий, имеющий вид отдельных островков. В этих участках хорошо различимы многочисленные кровеносные сосуды, одиночные лимфоциты, тканевые базофилы, а также крупные по размерам С-клетки [7].

На 3 сутки после введения циклофосфана ультрамикроскопическая картина щитовидной железы имела ряд особенностей. Со стороны соединительнотканной стромы отмечалась незначительная отечность в сочетании с увеличением волокнистого компонента. Кровоснабжение органа снижается за счёт уменьшения количества кровеносных сосудов на единице площади препарата. Форма тироцитов и ядер изменилась (рис. 3), вместе с тем клетки имеют чёткие границы и хорошо выраженные межклеточные контакты. Большинство ворсин на апикальной поверхности клеток стали толще и короче, уменьшилась их численность (рис. 4). Цистерны гранулярной эндоплазматической сети значительно расширены, что придаёт клеткам «ажурный» вид. Это может свидетельствовать как о накоплении в них тиреоглобулина, вследствие его усиленного синтеза, что маловероятно, или же, скорее всего, о нарушении нормальной скорости поступления тиреоглобулина в коллоид и одновременном снижении выведения гормонов из клетки в кровеносное русло. Коллоид фолликулов имеет гомогенный вид, однако, местами в нем содержатся



электронноплотные компоненты и резорбцион-

ные вакуоли.

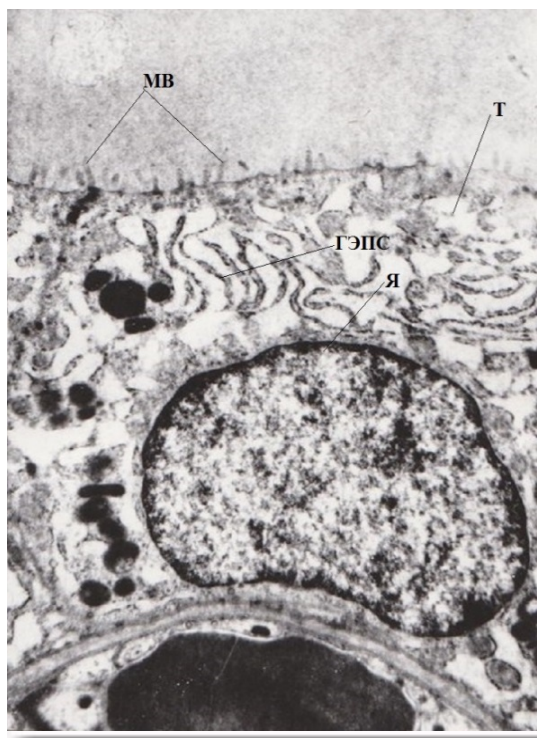


Рис. 1. Щитовидная железа крысы контрольной группы: Т – тироцит, Я – ядро, ГЭПС – гранулярная эндоплазматическая сеть, МВ – микроворсинки. ×12000.



Рис. 2. Щитовидная железа крысы контрольной группы: СК – С-клетка, Я - ядро, Г – гранулы. ×12000.

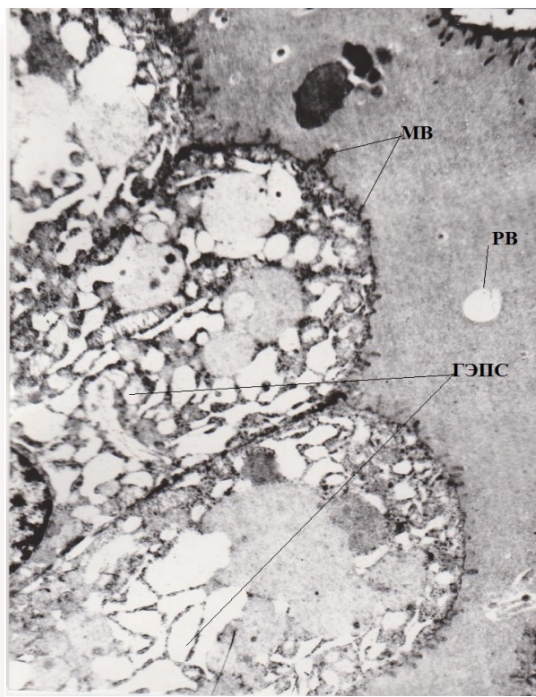


Рис. 3. Щитовидная железа крысы на 3 сутки после введения циклофосфана: МВ – микроворсинки, РВ – резорбционная вакуоль. ГЭПС – гранулярная эндоплазматическая сеть. ×8000.

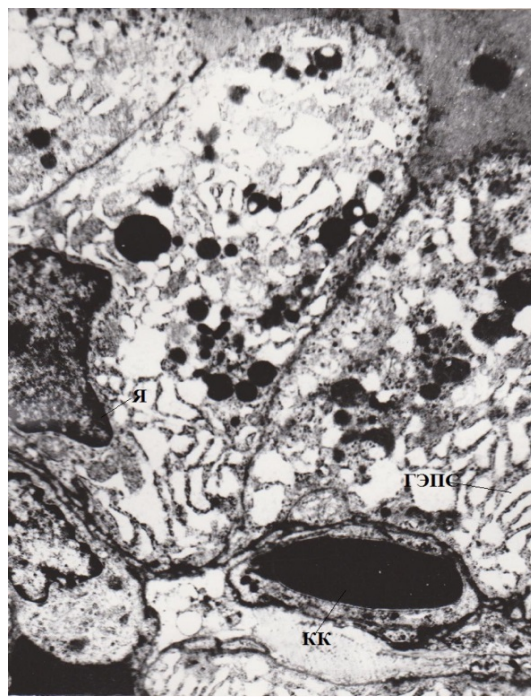


Рис. 4. Щитовидная железа крысы на 3 сутки после введения циклофосфана: Я-ядро, ГЭПС – гранулярная эндоплазматическая сеть. КК – кровеносный капилляр. ×8000.



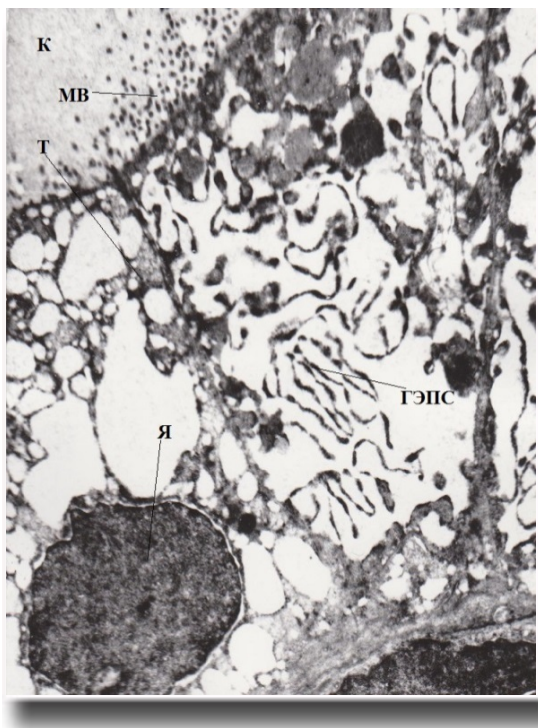


Рис. 5. Щитовидная железа крысы на 30 сутки после введения циклофосфана: К – коллоид, Т – тироцит, Я – ядро, МВ – микроворсинки. ГЭПС – гранулярная эндоплазматическая сеть. ×8000.

На 30 сутки наблюдения отмечается тенденция к нормализации ультрамикроскопической картины щитовидной железы, однако, полного восстановления структуры органа не происходит. Отмечается снижение высоты фолликулярного эпителия с призматического до кубического. Ядра клеток имеют типичное строение. Органеллы видны неотчётливо, микроворсинки на апикальной поверхности короткие. Структура коллоида внутри фолликула не изменена. Отечность стромы уменьшена, а кровоснабжение восстанавли-

вается. Однако в цитоплазме отдельных тироцитов наблюдаются местами всё ещё резко расширенные цистерны эндоплазматической сети, а также крупные и мелкие капли коллоида различной электронной плотности (рис.5).

В иммунобиологических экспериментах при моделировании иммунодефицитных состояний применяются различные методики. Встречаются работы с применением циклофосфана в разных дозировках [8]. Также имеются результаты, которые характеризуют ультраструктурные изменения в щитовидной железе вследствие тимэктомии [9], однако, публикаций, которые бы отображали изменения в ультраструктуре щитовидной железы крыс при однократном введении циклофосфана в дозировке 200 мг/кг в литературе не найдено. Вместе с тем известно, что именно такая дозировка достаточно часто применяется в эксперименте на животных, а реактивность органа напрямую зависит от способа введения препарата и его дозировки.

Таким образом, в результате проведенного электронномикроскопического исследования можно сделать **выводы**:

1. После однократного введения циклофосфана в дозе 200 мг/кг в щитовидной железе крыс на 3 сутки после инъекции развиваются выраженные изменения со стороны органелл тироцитов и стромы органа.

2. Через 30 суток после инъекции циклофосфана в железе развиваются реактивные изменения, направленные на нормализацию её структуры.

#### Перспективы дальнейших разработок

В перспективе планируется изучить электронномикроскопическое строение щитовидной железы животных после коррекции циклофосфан-индуцированной иммуносупрессии с помощью имунофана.

### Литературные источники References

1. Оценка риска развития тиреоидной патологии у лиц, облученных в раннем детском возрасте / А. В. Рожко, В. Б. Масыкин, Э. А. Надыров, С. С. Алексанин // Медико-биологические и социально-психологические проблемы безопасности в чрезвычайных ситуациях. – 2009. – № 3. – С. 6-9.

Rozhko AV, Masiakin VB, Nadyrov EA, Aleksanin SS. [Assessment of thyroid disease risk in individuals exposed to radiation in the early childhood]. Mediko-biologicheskiye i sotsialno-psikologicheskiye problemy bezopasnosti v chrezvychaynykh situatsiyakh. 2009; (3): 6-9. Russian.

2. 25 лет после Чернобыля: состояние здоровья, патогенетические механизмы, опыт медицинского сопровождения ликвидаторов последствий аварии на ЧАЭС // С. С. Алексанин, О. М.

Астафьев, А. В. Рожко [и др.] ; под ред. С. С. Алексанин. - СПб. : ВЦЭРМ, 2011. - 340 с.

Aleksanin SS, Astfiev OM, Rozhko AV et al., authors; Aleksanin SS, editor. [25 years after Chernobyl: health, pathogenic mechanisms, experience of medical support of the liquidators of the Chernobyl disaster]. Saint Petersburg: VCERM; 2011. 340 p. Russian.

3. Кеворков Н. Н. Некоторые механизмы влияния экзогенного тироксина на регуляцию иммунного ответа у мышей / Н. Н. Кеворков, Б. А. Бахметьев // Пробл. эндокринолог. - 1984. - Т. 30, № 4. - С. 52-56.

Kevorkov NN, Bakhmet'ev BA. [Mechanisms of the effect of exogenous thyroxine on the regulation of the immune response in mice]. Probl Endokrinol (Mosk). 1984 Jul-Aug;30(4):52-6. Russian. Cited in: PubMed; PMID: 6236457.

4. Eisenbarth G. S. Immunoendocrinology: scientific and clinical aspects / G. S. Eisenbarth. – NY : «Humana press», 2011. – 345 p.

Eisenbarth GS. Immunoendocrinology: scientific and clinical aspects. NY: Humana press; 2011. 345 p.

5. Катеруша Е. И. Иммунокорректирующая терапия в лечении больных с рецидивами узловых форм заболеваний щитовидной железы / Е. И. Катеруша, Ю. Ю. Елисеева, И. Н. Павлова // Социальные проблемы медицины и экологии человека : мат. Всерос. науч.-практ. конф. – Саратов, 2009. – С. 316-318.

Katerusha YeI, Yeliseeva YuYu, Pavlova IN. [Immune-corrective therapy for patients with recurrences of nodular thyroid diseases]. In: [Social problems of human medicine and ecology: Proceedings of Russian scientific and practical conference]. Saratov; 2009. p. 316-8. Russian.

6. Закон України «Про захист тварин від жорстокого поводження», № 1759-VI, від 15.12.2009.

[On protection of animals from cruelty], The Law of Ukraine No. 3447 (Feb 21, 2006), amended in accordance with the Laws No. 1759-VI (Dec 15, 2009), No. 5456-VI (Oct 16, 2012), No. 5459-VI (Oct 16, 2012), No. 406-VII (Jul 04, 2013).

7. Kierszenbaum A. L. Histology and cell biology: an introduction to pathology / A. L. Kierszenbaum, L. L. Tres. – Philadelphia : «Elsevier», 2012. – 701 p.

Kierszenbaum AL, Tres LL. Histology and cell biology: an introduction to pathology. Philadelphia: Elsevier; 2012. 701 p.

8. Юкина Г. Ю. Ультраструктурные и метаболические характеристики тироцитов при действии циклофосфана / Г. Ю. Юкина, В. Л. Быков, А. И. Неворотин // Морфология. - 2004.-Т. 125, №1. - С. 66-71.

Yukina Glu, Nevorotin AI, Bykov VL. [Ultrastructural and metabolic characteristics of the thyrocytes exposed to cyclophosphane]. Morfologiya. 2004;125(1):66-71. Russian. Cited in: PubMed; PMID: 15083584.

9. Болгова О. С. Особливості ультраструктури щитоподібної залози щурів що перенесли тимектомію в експерименті / О. С. Болгова // Актуальні питання фармацевтичної та медичної науки та практики : наук.-практ. конф. морфол. : [тези]. – Запоріжжя, 2003. – С. 230-235.

Bolgova OS. [Features of the thyroid gland ultrastructure in rats undergoing experimental thymectomy]. In: [Current issues of pharmaceutical and medical science and practice: Theses of scientific and practical morphological conference]. Zaporizhzhia, Ukraine; 2003. p. 230-5. Ukrainian.

**Кашенко С.А., Гончарова М.В. Ультрамiкроскопiчнi змiни щитоподiбної залози щурiв пiсля iмуносупресiї.**

**Реферат.** Значний контингент хворих отримує iмунодепресанти при лiкуваннi аутоiмунних, алергiчних захворювань, при трансплантацiї органiв i тканин. У зв'язку з цим актуальним є дослiдження морфореактивностi щитоподiбної залози при iмунодепресiї, викликаной введенням циклофосфану. Мета – вивчити субмiкроскопiчнi змiни структури щитовидної залози пiсля одноразового введення циклофосфану у великiй дозуваннi. Дослiдження проведено на 24 щурах-самцях з вихiдною масою 180±10 г, якi були роздiленi на 4 групи. У першу i другу групи входили тварини, яким одноразово вводився циклофосфан у дозi 200 мг/кг. Третю i четверту групи склали контрольнi (iнтактнi) тварини. Забiр матерiалу проводився через 3 i 30 дiб пiсля iн'єкцiї циклофосфану вiдповiдно до фаз iмунної вiдповiдi. У результатi проведеного електронномiкроскопiчного дослiдження виявлено, що в короткi термiни спостереження (3 доби) у структурi щитоподiбної залози з'явилися вираженi змiни з боку органел тироцитiв i строми органу. Через 30 дiб пiсля iн'єкцiї циклофосфану в залозi розвивалися реактивнi змiни, спрямованi на нормалiзацiю її структури. У перспективi планується вивчити електронномiкроскопiчну будову щитоподiбної залози тварин пiсля корекцiї циклофосфан-iндукованої iмуносупресiї за допомогою iмунофана.

**Ключовi слова:** щитоподiбна залоза, щури, ультрамiкроскопiя, iмуносупресiя, циклофосфан.