

І.С.Хріпков

ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України»

**Ключові слова:** трансплантована пухлина, дистантна взаємодія, фолікулярний ендокриноцит, рибосоми

Надійшла: 16.08.2016

Прийнята: 09.09.2016

УДК 576.311.33: 611.441

## УЛЬТРАСТРУКТУРНІ ОСОБЛИВОСТІ РЕАКЦІЇ БЛОК-СИНТЕЗУЮЧОГО АПАРАТУ ФОЛІКУЛЯРНИХ ЕНДОКРИНОЦИТІВ ЩИТОПОДІБНОЇ ЗАЛОЗИ ПРИ ДИСТАНТНІЙ ВЗАЄМОДІЇ З ПУХЛИНОЮ

**Реферат.** Проведено цитолографічне та кількісне ультрамікроскопічне дослідження динаміки змін в системі внутрішньоклітинного синтезу білка в тироцитах в процесі дистантної взаємодії з трансплантованою пухлиною. Дистантна взаємодія починає проявлятися на ранніх стадіях пухлинної прогресії зі змін у співвідношенні між вільними і зв'язаними рибосомами цитоплазми клітин з подальшим розвитком дифузних змін в гранулярній ЕПС і порушенням синтетичної, транспортної та секреторної функцій.

**Morphologia.** – 2016. – Т. 10, № 3. – С. 308-313.

© І.С.Хріпков, 2016

✉ [histoexpert@gmail.com](mailto:histoexpert@gmail.com)

**Khripkov I.S. The ultrastructural features of the reaction of protein - synthesizing apparatus of follicular cells of the thyroid gland at distant interaction with the tumor.**

**ABSTRACT. Background.** Long-standing observations among the patients with primary cancer of the thyroid gland show the high risk of primary cancer appearance in other organs. Simultaneously the high risk of the appearance of thyroid gland cancer is observed after the malignant non-thyroid neoplasms. **Objective.** The purpose of the present investigation was to study the condition and dynamics of changes in the protein-synthesizing apparatus of follicular cell of the thyroid gland during the process of distant interaction with the tumor in the experiment. **Methods.** As the experimental model of cancer we have used a model of the slightly differentiated solid adenocarcinoma of Guerin. Experiment was carried out on the male Wistar. Rats were divided into 2 groups. First group - control. To the second group - transplanted cells of Guerin's carcinoma by hypodermic injection beside the region of thighs. **Results.** After 2 weeks of transplanted tumor growth in follicular cells the increase in the free ribosome number is observed, they are localized in the apical and central part of cells. Granular endoplasmic reticulum is represented by cisterns with ribosomes unevenly distributed on their surface. The mutual parallel alignment of the membranes of endoplasmic reticulum is disrupted. These changes could evidence the violations of the direct way of protein synthesis and activation of the intracellular system of thyrocyte restitution. **Conclusion.** Distant interaction is manifested on the early stage of tumor progression based on changes in the relationship between the free and connected ribosomes in cell cytoplasm with the subsequent development of diffuse changes of the granular endoplasmic reticulum and the disturbance of the synthetic, transport and secretory functions of the cell.

**Key words:** transplanted tumor, distant interaction, thyrocyte, ribosome.

### Citation:

Khripkov IS.[The ultrastructural features of the reaction of protein - synthesizing apparatus of follicular cells of the thyroid gland at distant interaction with the tumor].Morphologia. 2016;10(3):308-13. Ukrainian.

### Вступ

Пухлини щитоподібної залози складають біля 1% від всіх злоякісних пухлин. Щорічно в світі діагностується біля 122 000 нових випадків злоякісних новоутворень щитоподібної залози [1]. Багатоцентрові дослідження, в яких проводилось тривале спостереження (протягом 25 років) за 39002 хворими, які страждають первинним раком щитоподібної залози, показали, що у таких хворих є високий ризик розвитку первинного раку інших органів. При цьому на 30% збільшується як ризик вторинного раку (первинної

пухлини в інших органах), так і ризик розвитку раку щитоподібної залози після різноманітних інших первинних злоякісних пухлин [2].

Патогенез пухлин щитоподібної залози - це процес багатофакторний, який залежить від генетичної схильності, дії гормональних чинників і чинників зовнішнього середовища. Реалізація дії різних патогенетичних чинників на клітину мішень опосередкує її внутрішньоклітинний білок - синтезуючий апарат.

**Метою** проведеного дослідження стало вивчення стану і динаміки змін білок - синтезуючо-

го апарату фолікулярних ендокриноцитів щито-подібної залози в процесі дистантної взаємодії з пухлиною в експерименті.

#### **Матеріали і методи**

В якості експериментальної моделі пухлини нами була використана модель малодиференційованої неметастазуючої солідної аденокарциноми Герена, яка має активний ріст і викликає високу летальність експериментальних тварин. Дослідження проводилося відповідно до Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (№27, ст. 230 від 2006 р.) зі змінами, внесеними згідно із Законом №1759, - VI (1759 - 17) від 15.12.2009, ВВР 2010, №9, ст.76, а також загальними етичними принципами експериментів над тваринами (1 Національний конгрес з біоетики, 20.09.2001, Київ) і «Етичним кодексом вченого України» (Національна академія наук України, 2009).

Експеримент проводили на щурах - самцях лінії Вістар масою 120 - 160 р. Тварини були розділені на 2 групи. Перша група (10 тварин) - контрольна. Другій групі (27 тварин) трансплантували штамп клітин карциноми Герена шляхом підшкірної ін'єкції в область стегна 1 мл 20% суспензії пухлинних клітин, які були отримані з 2-х тижневої пухлині. Первинний матеріал для трансплантації пухлини був отриманий в ДУ «Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології імені Р. Є. Кавецького». Тварин виводили з експерименту на 2, 4 і 12 тижні. Для електронно-мікроскопічного дослідження матеріал фіксували при температурі +2°C протягом 3-4 годин у 2,5% -ному розчині глutarальдегіду (виготовленому на 0,2М фосфатному буфері рН=7,4) з наступною постфіксацією протягом 1 години у 1% -ному забуференому (рН=7,4) розчині тетроксиду осмію («SPI», США), зневодненням у спиртах зростаючої концентрації та пропілен оксиді та виготовленням епоксидних блоків з використанням епон - аралдиту. Ультратонкі зрізи виготовляли на ультрамікротомі УМТП-6М («SELMІ», Україна) та розміщали на опорних сітках (Mesh Regular Grid 200). Подвійне контрастування проводили за методом Рейнольдса. Дослідження проводили за допомогою трансмісійного електронного мікроскопа ПЭМ-100-01 («SELMІ», Україна) при напрузі прискорення 75-80 кВ і первинних збільшеннях від 2000 до 80000 за стандартною схемою [3].

#### **Результати та їх обговорення**

Фолікулярні ендокриноцити є високоспеціалізованими поляризованими клітинами, які беруть участь в синтезі і транспорті нових синтезованих білків прямим способом (від комплексу Гольджи до апікальної поверхні клітини) і непрямим способом (транспорт білка до базолате-

ральної поверхні клітини). Основним білком фолікулярних ендокриноцитів, який утворюється прямим способом являється тироглобулін. Тироглобулін синтезується на полірибосомах гранулярної ендоплазматичної сітки (ЕПС), ініціація якого здійснюється утворенням ланцюга, що містить вуглеводи. Пов'язані рибосоми ендоплазматичної сітки синтезують претироглобулін, який переноситься в цистерни, де формуються вторинні і третинні структури тироглобуліна. Третинна структура тироглобуліна утворюється в результаті приєднання до претироглобуліну молекул вуглеводів за допомогою 7 молекулярних хаперонів. По цистернах гранулярної ендоплазматичної сітки тироглобулін транспортується в комплекс Гольджи, де відбувається остаточне утворення вуглеводних сульфатних компонентів. Далі у складі вакуолей тироглобулін переноситься до апікальної частини клітини, де шляхом екзоцитозу вивільняється у фолікулярну порожнину. На апікальній поверхні тироцита відбувається йодування тироглобуліна і утворення колоїду [4].

Стан білок - синтезуючої системи фолікулярних ендокриноцитів оцінювали на підставі аналізу кількісних (об'ємна доля цистерн ендоплазматичного ретикулума, вільних і пов'язаних з мембранами ендоплазматичної сітки рибосом) і цитотопографічних (розподіл органел по цитоплазмі поляризованої клітини) параметрів.

У складі фолікулярної клітини (тироцита) були виділені 3 зони: а) апікальна поверхня (обернена в порожнину фолікула і формує мікрворсинки); б) центральна зона (містить ядро тироцита і органели синтетичного і секреторного типу); в) базолатеральна поверхня (звернена до базальної мембрани і формує міжклітинні контакти з сусідніми клітинами у фолікулі).

У контрольній групі в цитоплазмі тироцитів гранулярна ендоплазматична сітка розвинена добре і представлена анастомозуючими каналцями і цистернами з численними зв'язаними рибосомами. Мембрани ендоплазматичної сітки орієнтовані паралельно одна одній. Вільні рибосоми нечисленні і розташовуються перинуклеарно. Цистерни і каналці ендоплазматичної сітки розташовані переважно в центральній зоні тироцита.

Через 2 тижні росту трансплантованої пухлини в цитоплазмі фолікулярних ендокриноцитів спостерігається збільшення кількості вільних рибосом, які локалізуються в апікальній і центральній частинах клітини. Гранулярна ендоплазматична сітка представлена цистернами на поверхні яких нерівномірно розташовані рибосоми. Взаємна паралельна орієнтація мембран ендоплазматичної сітки порушена.



Рис 1. Канальці та цистерни гранулярної ендоплазматичної сітки щурів контрольної групи. Електроннограма.  $\times 22500$ .

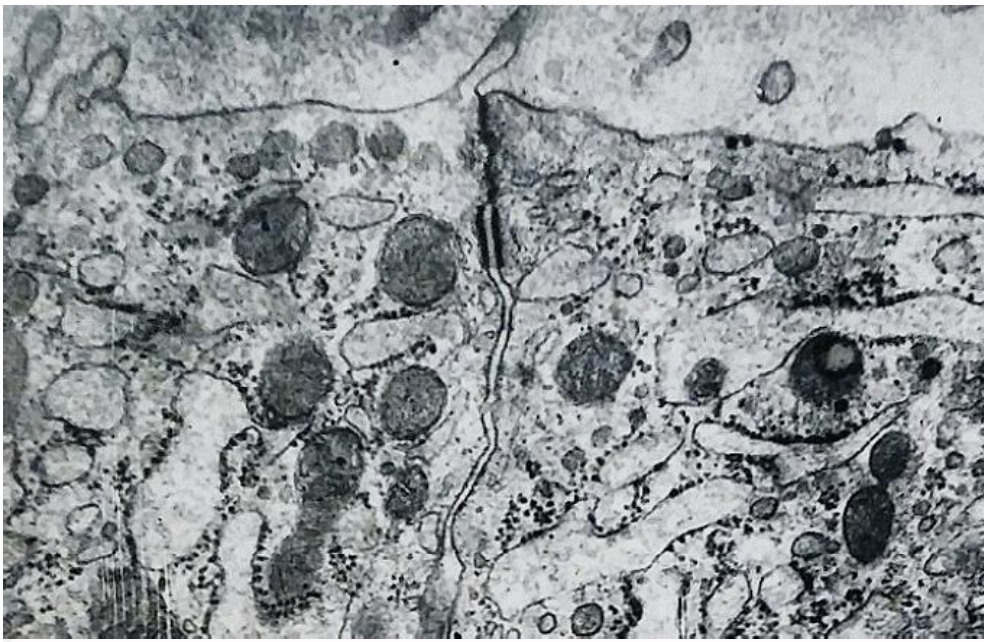


Рис 2. Цистерни ендоплазматичної сітки та вільні рибосоми в апікальній частині фолікулярних ендокриноцитів на 2 тижні росту трансплантованої пухлини. Електроннограма.  $\times 23000$ .

Через 4 тижні росту трансплантованої пухлини в цитоплазмі тироцитів відзначається значне розширення цистерн гранулярної ендоплазматичної сітки, які мають вигляд великих вакуолей і порожнин, заповнених пластівчастим вмістом. Цистерни ЕПС розташовані в усіх 3 зонах тироцита. Вільні рибосоми розташовані дифузно по всьому об'єму цитоплазми клітини.

На 12 тижні росту трансплантованої пухлини в цитоплазмі тироцитів виявлено розширення цистерн гранулярної ЕПС з одиничними рибосомами на її поверхні, які розташовуються в апікальній і базолатеральній зонах клітини. Порожни-на ЕПС заповнена дрібнозернистим матриксом. Вільні рибосоми рівномірно розподілені по всьому об'єму цитоплазми.





Рис 3. Цистерни ендоплазматичної сітки в апікальній частині фолікулярних ендокриноцитів на 4 тижні росту трансплантованої пухлини. Електронограма.  $\times 19000$ .



Рис 4. Цистерни ендоплазматичної сітки в апікальній частині фолікулярних ендокриноцитів на 12 тижні росту трансплантованої пухлини. Електронограма.  $\times 19000$ .

Кількісні параметри змін в системі синтезу біополімерів фолікулярних ендокриноцитів

представлені в таблиці 1.

Таблиця 1  
Динаміка змін об'ємної щільності компонентів білок – синтезуючої системи цитоплазми фолікулярних ендокриноцитів щитоподібної залози

Група	Контроль	Карцинома Герена 2 тижні росту	Карцинома Герена 4 тижні росту	Карцинома Герена 12 тижнів росту
Об'ємна щільність вільних рибосом	12,6+3,17	23,47+5,11*	18,19+2,96*	16,38+2,83
Об'ємна щільність зв'язаних рибосом	47,15+6,93	31,26+4,24*	12,68+3,05*	24,29+4,13*
Об'ємна щільність цистерн ендоплазматичної сітки	28,54+4,32	23,49+6,18	49,72+3,98*	36,67+4,78*

\* - статистично достовірні зміни параметру ( $p < 0,05$ ) у порівнянні з групою контролю

На 2 тижні росту пухлини спостерігається достовірне збільшення в цитоплазмі тироцитів вільних рибосом на 86%, з одночасним зменшенням кількості рибосом, пов'язаних з мембранами ЕПС на 34% при порівнянні з інтактним контролем. Ці зміни можуть свідчити про порушення прямого способу синтезу білка і активації системи внутрішньоклітинної реституції тироцита.

На 4 тижні росту пухлини відзначаються найістотніші зміни в цитоплазмі фолікулярних ендокриноцитів - кількість вільних рибосом збільшується на 44%, а число зв'язаних рибосом достовірно знижується при порівнянні з контрольним рівнем на 169%. При цьому об'ємна щільність цистерн ЕПС збільшується на 74%. Ці зміни дозволяють припустити функціональну блокаду синтезу біополімерів в тироцитах, викликану дистантною дією пухлини.

На 12 тижні росту пухлини зберігається тенденція негативної дистантної дії пухлини на систему синтезу біополімерів фолікулярних ендокриноцитів, яка проявляється в зменшенні кількості зв'язаних з мембранами ЕПС рибосом на

49% і збільшення об'єму цистерн ЕПС на 28%, що свідчить про порушення внутрішньоклітинних процесів транспорту і синтезу біополімерів як прямим, так і непрямим способом.

#### Підсумок

Дистантна дія пухлини на ультраструктури апарату синтезу біополімерів у фолікулярних ендокриноцитах щитоподібної залози починає проявлятися на ранніх стадіях пухлинної прогресії (2 тижень росту) зі зміни співвідношення між вільними і зв'язаними рибосомами апикальної зони клітин, яка приймає участь у формуванні фолікулярно - колоїдного бар'єру залози. У пізні терміни пухлинної прогресії (4 і 12 тижнів росту) відбуваються дифузні зміни у білок – синтетичному апараті клітини, які проявляються в порушенні синтетичної, накопичувальної і транспортної функції ендоплазматичної сітки.

**Перспективи подальших розробок** пов'язані з вивченням механізмів інтеграції внутрішньоклітинних структур в процесі адаптації клітин і розробкою способів спрямованого впливу на ці процеси.

#### Літературні джерела References

1. Balabolkin MI, Klebanova YeM, Kreminskaia VM. [Fundamental and clinical thyroidology: study guide]. Moscow: Meditsina; 2007. p. 816. Russian.
2. Sandeep TC, Strachan MW, Reynolds RM, Brewster DH, Scélo G, Pukkala E, Hemminki K, Anderson A, Tracey E, Friis S, McBride ML, Kee-Seng C, Pompe-Kim V, Kliever EV, Tonita JM, Jonasson JG, Martos C, Boffetta P, Brennan P. Second primary cancers in thyroid cancer patients: a

- multinational record linkage study. J Clin Endocrinol Metab. 2006 May;91(5):1819-25.
3. Kuo J. Electron microscopy: methods and protocols. New Jersey: Humana Press Inc; 2007. 608 p.
4. Kohn LD, Suzuki K, Nakazato M, Royaux I, Green ED. Effects of thyroglobulin and pendrin on iodide flux through the thyrocyte. Trends Endocrinol Metab. 2001 Jan-Feb;12(1):10-6.

**Хришков И.С.** Ультраструктурные особенности реакции белок – синтезирующего аппарата фолликулярных эндокриноцитов щитовидной железы при дистантном взаимодействии с опухолью.

**Реферат.** Проведено цитотопографическое и количественное ультрамикроскопическое изучение динамики изменений в системе внутриклеточного синтеза белка в тироцитах в процессе дистантного взаимодействия с трансплантированной опухолью. Дистантное взаимодействие проявляется на ранней стадии опухолевой прогрессии с изменением соотношения между свободными и связанными рибосомами цитоплазмы клеток с последующим развитием диффузных изменений в гранулярной эндоплазматической сети и нарушением синтетической, транспортной и секреторной функций клетки.

**Ключевые слова:** трансплантированная опухоль, дистантное взаимодействие, фолликулярный эндокриноцит, рибосомы.