

ТЕОРЕТИЧНА І ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА МЕДИЦИНА

УДК 591.444.5:615.277

*В.В. Ерохина**Харьковский национальный медицинский университет***МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ СТРОЕНИЯ
ПАРАЩИТОВИДНЫХ ЖЕЛЕЗ БЕЛЫХ КРЫС
ПОСЛЕ ИММУНОСТИМУЛЯЦИИ**

Были изучены морфометрические параметры паращитовидных желез белых крыс после применения производного тимического гормона – аргинил-аспарагил-лизил-валил-тирозил-аргинина (ААЛВТА). Исследование проведено на 48 крысах-самцах с исходной массой тела (180 ± 10) г, которым вводили иммуностимулятор 1 раз в сутки по 50 мкг/кг на 1-е, 3-и, 5-е, 7-е и 9-е сутки. Животных выводили из эксперимента на 3-и, 15-е, 30-е и 90-е сутки после последней инъекции. Измеряли линейные параметры паращитовидных желез (толщину, ширину, высоту), площадь органа на срезах, количество сосудов в поле зрения препарата и их диаметр, толщину капсулы паращитовидной железы. Установлено, что после введения ААЛВТА происходит достоверное увеличение морфометрических параметров паращитовидных желез через 7, 15 и 30 суток после моделирования иммуностимуляции, что может свидетельствовать о высокой морфореактивности органа. На 90-е сутки полученные данные приближаются к контрольным значениям, что может указывать на компенсаторно-приспособительный характер реакции в ответ на экзогенное воздействие.

Ключевые слова: паращитовидная железа, крысы, морфометрия, иммуностимуляция, иммуностимулятор.

Введение

Кальций – жизненно важный макроэлемент, который занимает второе место по вовлеченности в различные физиологические и биохимические процессы, происходящие в организме. В обеспечении гомеостаза кальция и, следовательно, в его метаболизме ключевую роль играет гормон паращитовидной железы – паратгормон. Последний участвует в поддержании концентрации кальция в плазме крови, взаимодействуя с костной тканью, почками и кишечником [1, 2].

Функциональная активность иммунной системы во многом определяет адаптационные возможности организма в целом. Нарушение нейроэндокринных взаимодействий является одним из важнейших механизмов дисфункции иммунной системы. Таким образом,

одним из факторов, который определяет уровень иммунологической реактивности организма, является состояние органов эндокринной системы [3].

На этом основании оценка состояния органов эндокринной системы и их роли в формировании изменений иммунологической реактивности организма, несомненно, важна, поскольку разработка современных и перспективных программ восстановления функций иммунной системы при различных заболеваниях базируется на данных, касающихся роли эндо- и экзогенных регуляторов в реализации взаимодействия эндокринной и иммунной систем [4].

Паращитовидные железы обладают выраженной способностью к морфоперестройке под влиянием разнообразных эндо- и экзогенных факторов, однако при изучении данного

© В.В. Ерохина, 2017

органа отечественные и зарубежные авторы в большинстве своем делают акцент на иммунологические и иммуногистохимические исследования, при этом морфологические аспекты остаются практически не изученными [5].

Анализ литературных данных

В последние годы активизировался интерес исследователей к проблеме кооперации иммунной и эндокринной систем и их взаимодействия в поддержании гомеостаза организма и регуляции онтогенетических процессов. Такое взаимодействие базируется, с одной стороны, на способности иммуноцитов как экспрессировать рецепторы для нейроэндокринных медиаторов, так и секретировать многие из них, а с другой стороны, на возможности иммуноцитов влиять на нейроны и эндокриноциты с помощью цитокинов [6].

Проблема иммунологической реактивности щитовидной железы нашла отражение в работе Е.С. Болговой, которая исследовала органометрические показатели и структуру органа в условиях вторичного иммунодефицита, вызванного тимэктомией. Установлено, что в условиях эксперимента длина, ширина, толщина и объем доли щитовидной железы белых крыс репродуктивного возрастного периода были выше контрольных значений на 1,68–14,48 % в ранние сроки наблюдения [7].

В.В. Овчаренко было показано, что после тимэктомии морфофункциональное состояние надпочечников белых крыс характеризуется увеличением их функционального напряжения, которое сопровождается увеличением ряда морфометрических параметров органа. Указанные изменения отмечаются в группе крыс репродуктивного возрастного периода практически во всех сроках наблюдения (7–180-е сутки) с максимальными различиями большинства показателей на 30-е сутки наблюдения. Выявлено достоверное увеличение абсолютной и относительной массы надпочечников во все сроки наблюдения (24,5–36,7 %) [8].

В экспериментальных исследованиях, проведенных И.В. Бобрышевой, показана высокая реактивность аденогипофиза беспородных крыс при изменении иммунного статуса организма. Выявлено достоверное изменение строения, цитологических и кариометрических параметров тиротропных эндокриноцитов аденогипофиза белых крыс репродуктивного возрастного периода после введения ар-

гинил-аспарагил-лизил-валил-тирозил-аргинина (ААЛВТА) в дозе 0,7 мкг/кг массы тела. После проведения иммуностимуляции выявлено изменение площадей ядер, ядерно-цитоплазматического отношения, а также процентного соотношения тиротропных эндокриноцитов с различным диаметром ядер начиная с 7-х суток после введения препарата [9].

Характер иммунного ответа во многом зависит и от взаимоотношений селезенки и надпочечников. По данным И.С. Стоменской, удаление селезенки приводит к изменению морфометрических показателей надпочечников крыс репродуктивного возрастного периода. Выявлено увеличение относительной массы органа во все сроки исследования с наибольшим значением через 7 суток после спленэктомии (34,2 %) и расширение площади пучковой зоны и мозгового вещества максимально через 7 и 120 суток (26,5 и 35,7 % соответственно) [10].

Таким образом, органы эндокринной системы активно реагируют на экзогенное воздействие, связанное с изменением иммунного статуса организма. Данные относительно морфоструктуры, линейных размеров и морфометрических параметров паращитовидных желез крыс при иммуностимуляции в отечественной и зарубежной литературе практически отсутствуют.

Целью настоящей работы послужило исследование морфометрических параметров паращитовидных желез белых крыс после применения производного тимического гормона – аргинил-аспарагил-лизил-валил-тирозил-аргинина.

Материал и методы исследований

Экспериментальное исследование проведено на 48 крысах-самцах репродуктивного возрастного периода с исходной массой тела (180±10) г. Выбор животных определялся тем, что по некоторым характеристикам иммунологического статуса крысы ближе к человеку, чем другие животные. Самцов содержали в стандартных условиях вивария. При проведении эксперимента были соблюдены все действующие этические нормы при работе с подопытными животными, включая Закон Украины от 15.12.09 № 1759-VI «Про захист тварин від жорстокого поводження» и положения Европейского научного сообщества «Использование животных в исследованиях (2000)». Иммуномодуляцию у крыс экспе-

риментальной группы проводили с помощью введения синтетического производного тимического гормона – ААЛВТА. Препарат выделен в группу иммунорегуляторных пептидов четвертого поколения и на основании совокупности его главных фармакологических эффектов определен как регуляторный иммуноксидредуктант, обладающий способностью восстанавливать нарушенные показатели иммунной системы организма. Гормон вводили 1 раз в сутки по 50 мкг/кг массы тела внутримышечно по схеме на 1-е, 3-и, 5-е, 7-е и 9-е сутки. Интактные крысы составили группу контроля. Забор материала проводили на 7-, 15-, 30- и 90-е сутки после окончания введения ААЛВТА. Для исследования выделяли паращитовидные железы в комплексе со щитовидной железой и фиксировали в 10 % растворе формалина, подвергали стандартной гистологической проводке. Срезы органа толщиной 5–7 мкм окрашивали гематоксилин-эозином и изучали с помощью автоматизированного морфометрического комплекса, включавшего световой микроскоп Olympus CX41, цифровую фотокамеру, персональный компьютер с набором прикладных программ. Гистологические срезы левых паращитовидных желез делали в продольном направлении, а правых – в поперечном, окрашивали гематоксилин-эозином. На микропрепаратах паращитовидных желез изучали структуру органа в шести полях зрения каждого среза, с каждого объекта анализировали шесть срезов. Измеряли линейные параметры паращитовидных желез (толщину, ширину, высоту), площадь органа на срезах, количество сосудов в поле зрения препарата и их диаметр, толщину капсулы паращитовидной железы. Под шириной подразумевалась малая ось проекции органа во фронтальной плоскости. Высота железы соответствовала большой оси проекции органа во фронтальной плоскости. Под толщиной подразумевалась малая ось проекции железы в сагиттальной плоскости.

Полученные данные обрабатывали статистически. Достоверность статистически значимых различий между показателями экспериментальных и контрольных групп лабораторных животных определяли с помощью критерия Стьюдента–Фишера при $p \leq 0,05$.

Результаты и их обсуждение

У белых лабораторных крыс контрольной группы имеются две паращитовидные желе-

зы, которые расположены на латеральной поверхности краниального полюса правой и левой долей щитовидной железы. Паращитовидные железы находятся в тесной анатомической связи с щитовидной железой и имеют общую с ней васкуляризацию и иннервацию. Макроскопически железы представляют собой беловатые образования округлой формы.

Микроскопически паращитовидная железа распознается по характерной плотной упаковке клеток в отличие от фолликулярной структуры щитовидной железы. Паращитовидная железа крыс контрольной группы состоит из трабекул, которые являются структурно-функциональной единицей органа. Трабекулы представляют собой тяжи из паратирицитов, которые разделяются тонкими прослойками рыхлой волокнистой соединительной ткани с многочисленными капиллярами. Соединительнотканная строма весьма богата кровеносными сосудами, особенно своеобразными широкими синусоидными капиллярами, которые тесно соприкасаются с клетками паренхимы. В паренхиме паращитовидной железы встречаются единичные адипоциты или их скопления.

Установлено, что после введения ААЛВТА паращитовидные железы крыс сохраняли все морфологические особенности, характерные для типичного строения органа: наличие капсулы, трабекул и основных клеточных популяций (рис. 1).

По результатам органомерического исследования выявлено, что в серии животных, получавших внутримышечно ААЛВТА по схеме, линейные параметры органа достовер-

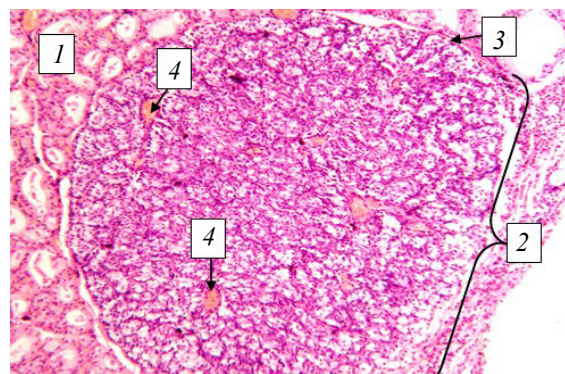


Рис. 1. Паращитовидная железа крысы после введения ААЛВТА (30-е сутки): 1 – щитовидная железа; 2 – паращитовидная железа; 3 – капсула; 4 – кровеносные сосуды. Окраска гематоксилин-эозином. Приближение: Zoom 18,5. Объектив: PlanC N 10×/0,25∞/-/FN22

но увеличивались с 7-х по 30-е сутки наблюдения. К 90-м суткам после последней инъекции препарата все исследуемые размеры имели тенденцию к нивелированию.

Толщина паращитовидных желез беспородных белых крыс изменялась от $(617,0 \pm 20,6)$ до $(954,00 \pm 12,62)$ мкм. Указанный параметр на 7-, 15- и 30-е сутки после последней инъекции препарата достоверно увеличивался относительно такового у интактных животных на 20,17; 11,84 и 28,58 % соответственно.

Изменение ширины паращитовидных желез также имело выраженный характер. Минимальное значение этого параметра установлено на 7-е сутки наблюдения [$(523,0 \pm 15,3)$ мкм], а максимальное – на 30-е сутки исследования [$(860,00 \pm 12,47)$ мкм]. Статистически значимое превышение показателей крыс контрольной группы выявлено на 7-, 15- и 30-е сутки и составило 17,32; 16,94 и 34,17% соответственно.

Динамика высоты исследуемого органа имела сходную направленность. Указанный параметр превышал контрольные значения на 7-, 15- и 30-е сутки изучения. К 7-м суткам после завершения инъекций ААЛВТА высота органа увеличилась на 9,12 % по сравнению с таковой у крыс интактной группы. На 15-е сутки отличие составило 15,63 %. Максимальное статистически значимое превышение показателей белых крыс контрольной группы имело место на 30-е сутки наблюдения (40,11 %).

В ходе эксперимента установлено, что площадь паращитовидных желез варьировала от $(387\,313 \pm 2920)$ мкм² (7-е сутки) до $(699\,366,00 \pm 5750,89)$ мкм² (30-е сутки). Статистически значимое превышение показателей животных контрольной группы выявлено на 7-, 15- и 30-е сутки после введения ААЛВТА (на 14,92; 12,89 и 69,43 % соответственно). На 90-е сутки изучения экспериментальные параметры приближались к показателям интактных крыс.

Толщина капсулы паращитовидных желез изменялась от $(13,54 \pm 1,07)$ мкм (30-е сутки) до $(29,00 \pm 1,23)$ мкм (90-е сутки). Достоверное отличие полученных результатов от контрольных значений отмечалось только на 30-е и 90-е сутки после завершения инъекций и составило 40,35 и 61,11 % соответственно.

Кровоснабжение паращитовидных желез белых крыс репродуктивного возрастного периода после проведения иммуностимуляции имело некоторые особенности. Минимальное

количество сосудов в поле зрения препарата установлено на 15-е сутки после завершения инъекций ($1,33 \pm 0,23$), рис. 2. Максимальное

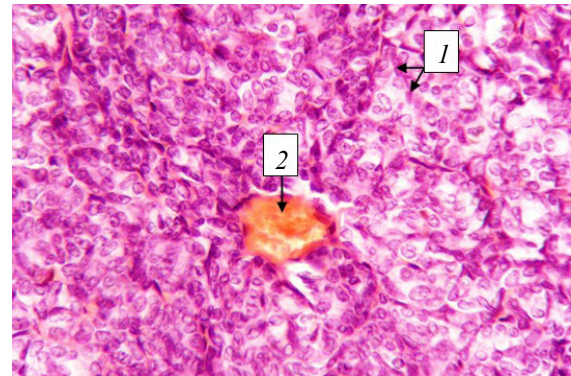


Рис. 2. Паращитовидная железа крысы после введения ААЛВТА (15-е сутки): 1 – эндокринные паратироциты; 2 – кровеносный сосуд. Окраска гематоксилин-эозином. Приближение: Zoom 18,5. Объектив: PlanC N 40x/0,65∞/0,17/FN22

увеличение параметра отмечалось на 7-е сутки исследования и составило $3,23 \pm 0,41$, при этом большая часть сосудов локализовалась на периферии железы в местах обильного скопления адипоцитов. В этой группе животных сосуды диаметром 20–30 мкм встречались в 2,2 раза чаще, чем сосуды диаметром 31–45 мкм, и в 8,8 раза чаще, чем сосуды диаметром 46–60 мкм. Статистически значимое увеличение количества сосудов в поле зрения после введения ААЛВТА в сравнении с таковым у крыс интактной группы имело место на 7-е сутки наблюдения (55,4 %), рис. 3.

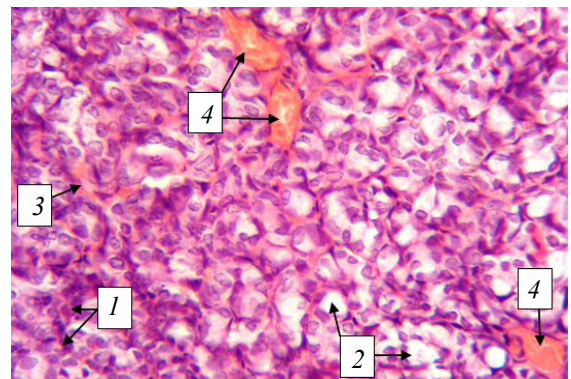


Рис. 3. Паращитовидная железа крысы после введения ААЛВТА (7-е сутки): 1 – эндокринные паратироциты; 2 – адипоциты; 3 – соединительнотканнные перегородки; 4 – кровеносные сосуды. Окраска гематоксилин-эозином. Приближение: Zoom 18,5. Объектив: PlanC N 40x/0,65∞/0,17/FN22

Через 15, 30 и 90 суток после последней инъекции препарата достоверных различий между кровоснабжением паращитовидных желез животных контрольной и экспериментальной групп не выявлено.

Выводы

1. После введения аргинил-аспарагил-лизил-валил-тирозил-аргинина происходит достоверное увеличение морфометрических па-

раметров паращитовидных желез через 7, 15 и 30 суток после моделирования иммуностимуляции, что может свидетельствовать о высокой морфореактивности органа.

2. На 90-е сутки полученные данные приближаются к контрольным значениям, что может указывать на компенсаторно-приспособительный характер реакции в ответ на экзогенное воздействие.

Список литературы

1. Влияние паратиреоидэктомии на показатели костного метаболизма у пациентов с вторичным гиперпаратиреозом на фоне хронической болезни почек / А. В. Величко, Ю. И. Ярец, С. Л. Зыблев [и др.] // *Общая и частная хирургия*. – 2016. – № 1. – С. 32–39.
2. Conigrave A. D. The calcium-sensing receptor and the parathyroid: past, present, future / A. D. Conigrave // *Frontiers in Physiology*. – 2016. – № 7, article 563.
3. Effects of parathyroid hormone on immune function / A. S. Geara, M. R. Castellanos, C. Bassil [et al.] // *Clinical and Developmental Immunology*. – 2010. – Vol. 10, № 6. – P. 1–10.
4. Gaillard R. C. Conversation galante: How the immune and the neuroendocrine systems talk to each other / R. C. Gaillard // *Autoimmunity Reviews*. – 2007. – Vol. 7, № 1. – P. 23–29.
5. Chen H. Nerve fibres in the parathyroid gland of the Golden Hamster (*Mesocricetus auratus*): Immunohistochemical and ultrastructural investigations / H. Chen, S. Shoumura, S. Emura // *Anatomia, Histologia, Embryologia*. – 2005. – № 34. – P. 34–37.
6. Ланин Д. В. Нейроэндокринные механизмы регуляции функций иммунной системы / Д. В. Ланин, Н. В. Зайцева, О. В. Долгих // *Успехи современной биологии*. – 2011. – Т. 131, № 2. – С. 122–134.
7. Болгова Е. С. Динамика морфометрических показателей щитовидной железы половозрелых крыс под влиянием тимогена / Е. С. Болгова // *Український медичний альманах*. – 2004. – Т. 7, № 1. – С. 16–18.
8. Овчаренко В. В. Органометричні показники надниркових залоз щурів при тимектомії та застосуванні препарату тимогену / В. В. Овчаренко // *Український медичний альманах*. – 2004. – Т. 2, № 1. – С. 120–122.
9. Бобрышева И. В. Особенности структурно-функциональных изменений ацидофильных эндокриноцитов аденогипофиза крыс после применения имунофана / И. В. Бобрышева // *Світ біології та медицини*. – 2013. – № 1. – С. 100–104.
10. Морфофункциональное состояние структур тимуса, надпочечников и периферической крови через неделю после спленэктомии / Л. М. Меркулова, Г. Ю. Стручко, И. С. Стоменская, Т. В. Агафонкина // *Вестник Чувашского университета*. – 2001. – № 4. – С. 95–104.

References

1. Velichko A.V., Yarets Yu.I., Zyblev S.L., Dundarov Z.A., Pokhozhaï V.V. (2016). Vliianiie paratireoidektomii na pokazateli kostnoho metabolizma u patsientov s vtorichnym hiperparatireozom na fone khronicheskoi bolezni pochek [Influence of parathyroidectomy on bone metabolism in patients with secondary hyperparathyroidism in the background of chronic kidney disease]. *Obshchaia i chastnaia khirurgiia – General and Special Surgery*, № 1, pp. 32–39 [in Russian].
2. Conigrave A.D. (2016). The calcium-sensing receptor and the parathyroid: past, present, future. *Frontiers in Physiology*, № 7, article 563.
3. Geara A.S., Castellanos M.R., Bassil C., Tam Thanh Nguyen, Eunhye Kim, Siyoung Lee et al. (2010). Effects of parathyroid hormone on immune function. *Clinical and Developmental Immunology*, vol. 10, № 6, pp. 1–10.
4. Gaillard R.C. (2007). Conversation galante: How the immune and the neuroendocrine systems talk to each other. *Autoimmunity Reviews*, vol. 7, № 1, pp. 23–29.

5. Chen H., Shoumura S., Emura S. (2005). Nerve fibres in the parathyroid gland of the Golden Hamster (*Mesocricetus auratus*): Immunohistochemical and ultrastructural investigations. *Anatomia, Histologia, Embryologia*, № 34, pp. 34–37.

6. Lanin D.V., Zaitseva N.V., Dolhikh O.V. (2011). Neuroendokrinnyie mekhanizmy rehuliatsii funktsii immunnoi sistemy [Neuroendocrine mechanisms of regulation of immune functions]. *Uspekhi sovremennoi biologii – Advances in Modern Biology*, vol. 131, № 2, pp. 122–134 [in Russian].

7. Bolhova E.S. (2004). Dinamika morfometriceskikh pokazatelei shchitovidnoi zhelezy polovozrelykh krysh pod vlianiem timohena [Dynamics of morphometric parameters of the thyroid gland of mature rats under the influence of thymogen]. *Ukrainskyi medychnyi almanakh – Ukrainian Medical Almanac*, vol. 7, № 1, pp. 16–18 [in Russian].

8. Ovcharenko V.V. (2004). Orhanometrychni pokaznyky nadnyrkovykh zaloz shchuriv pry tymektomii ta zastosuvanni preparatu tymohenu [Organometric parameters of adrenal glands of rats at thymectomy and the use of thymogen]. *Ukrainskyi medychnyi almanakh – Ukrainian Medical Almanac*, vol. 7, № 1, pp. 120–122 [in Ukrainian].

9. Bobrysheva I.V. (2013). Osobennosti strukturno-funktsionalnykh izmenenii atsidofilnykh endokrinotsitov adenohipofiza krysh posle primeneniia imunofana [Features of structural and functional changes in acidophilic endocrinocytes of adenohypophysis in rats after administration of imunofane]. *Svit biologii ta medytsyny – World of Biology and Medicine*, № 1, pp. 100–104 [in Russian].

10. Merkulova L.M., Struchko G.Yu., Stomenskaia I.S., Ahafonkina T.V. (2001). Morfofunktsionalnoie sostoianniye struktur timusa, nadpochechnikov i perifericheskoi krovi cherez nedeliu posle splenektomii [Morphofunctional condition of thymus, adrenal and peripheral blood one week after the splenectomy]. *Vestnik Chuvashskoho universiteta – Bulletin of the Chuvash University*, № 4, pp. 95–104 [in Russian].

V.V. Erokhina

MORFOLOGIČNI OSOBLIVOSTI BUDOVY PRIŠCITOPODİBNYKH ZALoz BİLİKH ŠCVRİV PİSLIA İMUOSTIMULIAČII

Було вивчено морфометричні параметри прищитоподібних залоз білих щурів після застосування похідного тимічного гормону – аргініл-аспарагіл-лізил-валіл-тирозил-аргініну (ААЛВТА). Дослідження проведено на 48 щурах-самцях з вихідною масою тіла (180 ± 10) г, яким вводили імуностимулятор 1 раз на добу по 50 мкг/кг на 1-шу, 3-тю, 5-ту, 7-му та 9-ту доби. Тварин виводили з експерименту на 3-тю, 15-ту, 30-ту та 90-ту доби після останньої ін'єкції. Вимірювали лінійні параметри прищитоподібних залоз (товщину, ширину, висоту), площу органа на зрізах, кількість судин у полі зору препарату та їхній діаметр, товщину капсули прищитоподібної залози. Встановлено, що після введення ААЛВТА відбувається достовірне збільшення морфометричних параметрів прищитоподібних залоз через 7, 15 і 30 діб після моделювання імуностимуляції, що може свідчити про високу морфореактивність органа. На 90-ту добу отримані дані наближаються до контрольних значень, що може вказувати на компенсаторно-приспосувальний характер реакції у відповідь на екзогенний вплив.

Ключові слова: прищитоподібна залоза, щури, морфометрія, імуностимуляція, імуностимулятор.

V.V. Erokhina

MORPHOLOGICAL FEATURES OF PARATHYROIDE GLANDS OF WHITE RATS AFTER IMMUNOSTIMULATION

The features of the morphometric parameters of the parathyroid glands of white rats were studied after the use of the derivative of the thymic hormone – arginyl-asparagill-lysyl-valile-tyrosyl-arginine (AALVTA). The study was carried out on 48 male rats of reproductive age with an initial body weight (180 ± 10) g. Animals were injected by immunostimulant on 50 mcg/kg for the 1st, 3rd, 5th, 7th and 9th days. The animals were brought out the experiment on the 3rd, 15th, 30th and 90th days after the completion of the injection. The linear parameters of the parathyroid glands (thickness, width, height), the area of the organ in the sections, the number of blood vessels in the field of vision of the slide and their diameter were estimated, the thickness of the capsular gland was measured. It was found that after the introduction of AALVTA there is a significant increase in the morphometric parameters of the glandular glands on 7, 15 and 30 days

after the immune stimulation, which may indicate a high morphoreactivity of the organ. On 90th day the data are closer to the control values, which may indicate the compensatory and adaptive nature of the reaction in response to exogenous factor.

Keywords: *parathyroid gland, rats, morphometry, immunostimulation, immunostimulant.*

Надійшла 12.06.17

Відомості про автора

Єрохіна Вікторія Валеріївна – кандидат медичних наук, асистент кафедри гістології, цитології та ембріології Харківського національного медичного університету.

Адреса: Україна, 61022, м. Харків, пр. Науки, 4.

Тел. +38(057)707-73-51.

E-mail: sha1936@rambler.ru.