

УДК: 591.444.5:615.277

С. А. Кащенко, В. В. Ерохина УЛЬТРАМИКРОСКОПИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ПАРАЩИТОВИДНЫХ ЖЕЛЕЗ КРЫС ПОСЛЕ КОРРЕКЦИИ ЦИКЛОФОСФАН- ИНДУЦИРОВАННОЙ ИММУНОСУПРЕССИИ ИМУНОФАНОМ

ГЗ «Луганский государственный медицинский университет»

Кащенко С.А., Ерохина В.В. Ультрамикроскопические изменения паращитовидных желез крыс после коррекции циклофосфан-индуцированной иммуносупрессии имунофаном // Украинський морфологічний альманах. – 2014. – Том 12, № 1. – С. 61-64.

Целью исследования явилось установление особенностей электронно-микроскопического строения паращитовидных желез белых крыс при иммуносупрессии, вызванной введением циклофосфана, с последующей коррекцией имунофаном. Исследование проведено на 24 крысах-самцах с исходной массой тела 180 ± 10 , которым вводили циклофосфан однократно внутримышечно в дозировке 200 мг/кг. Иммунокоррекция достигалась введением имунофана один раз в сутки по 50 мкг/кг на 1, 3, 5, 7, 9 сутки. Животных выводили из эксперимента на 3 и 30 сутки после завершения инъекций. Изучали ультраструктуру паращитовидных желез в норме, а также после коррекции иммунодефицитного состояния имунофаном. Введение имунофана в качестве корректора способствует интенсивному развитию органелл синтеза на 3 сутки после введения препарата. В ранние сроки наблюдения ядра паратироцитов имеют повышенную электронную плотность, а также нетипичную форму с многочисленными боковыми вырезками. На 30 сутки происходит нормализация формы ядра паратироцитов, стабилизация синтетических процессов в клетках. Динамика изменений ультрамикроскопического строения паращитовидных желез при использовании имунофана свидетельствует о его активной роли в регуляции иммунного статуса организма.

Ключевые слова: паращитовидная железа, крысы, ультраструктура, циклофосфан, имунофан.

Кащенко С.А., Ерохина В.В. Ультрамикроскопічні зміни паращитоподібних залоз щурів після корекції циклофосфан-індукованої імуносупресії імунофаном // Український морфологічний альманах. – 2014. – Том 12, № 1. – С. 61-64.

Метою дослідження було встановлення особливостей електронно-мікроскопічної будови паращитоподібних залоз білих щурів під час імуносупресії, викликаної введенням циклофосфану, з подальшою корекцією імунофаном. Дослідження проведено на 24 щурах-самцях з вихідною масою тіла 180 ± 10 , яким вводили циклофосфан одноразово внутрішньом'язово в дозуванні 200 мг/кг. Імунокорекція досягалася введенням імунофану один раз на добу по 50 мкг/кг на 1, 3, 5, 7, 9 добу. Тварин виводили з експерименту на 3 і 30 добу після останньої ін'єкції. Вивчали ультраструктуру паращитоподібних залоз в нормі, а також після корекції імунодефіцитного стану імунофаном. Введення імунофану в якості коректора сприяє інтенсивному розвитку органелл синтезу на 3 добу після введення препарату. У ранні терміни спостереження ядра паратироцитів мають підвищену електронну щільність, а також нетипову форму з численними бічними вирізками. На 30 добу відбувається нормалізація форми ядра паратироцитів, стабілізація синтетичних процесів в клітинах. Динаміка змін ультрамікроскопічної будови паращитоподібних залоз при використанні імунофану свідчить про його активну роль в регуляції імунного статусу організму.

Ключові слова: паращитоподібна залоза, щури, ультраструктура, циклофосфан, імунофан.

Kashchenko SA., Erokhina V.V. Ultramicroscopic changes of rat parathyroid glands after correction of cyclophosphamide induced immunosuppression with the help of imunofan // Український морфологічний альманах. – 2014. – Том 12, № 1. – С. 61-64.

The objective of the work was to study features of electron-microscopic structure of the rat parathyroid glands under immunosuppression caused by the administration of cyclophosphamide, with the subsequent correction with imunofan. The study was carried out on 36 male rats of reproductive age with an initial body weight 180 ± 10 g. The animals received an intramuscular injection of cyclophosphamide in a dose of 200 mg/kg body weight. Immune stimulation with the help of imunofan was selected for correction immunosuppression. Animals were injected by imunofan on 50 mg/kg for the 1, 3, 5, 7, 9 days. Intact rats served as control. The animals were brought out the experiment on the 3rd and 30th day after the completion of the injection. The ultrastructure of rat parathyroid glands in norma as well as after correction of immunodeficient condition with imunofan was studied. Administration of imunofan as a corrector promotes intensive development of organelles of synthesis on the 3rd day after the injection. Nuclei of parathyrocytes have increased electron density and atypical form with numerous lateral deepening in early periods of observation. Normalization of the shape of the nuclei, stabilization of synthetic processes in the cells occur on the 30th day. Dynamics of changes in ultramicroscopic structure of the parathyroid glands suggests an active role of imunofan in the regulation of immune status.

Key words: parathyroid gland, rats, ultrastructure, cyclophosphamide, imunofan.

Вступление. На сегодняшний день большой клинический интерес вызывают иммунодефицитные состояния и аутоиммунные заболевания, широкое распространение которых среди населения Украины связано с последствиями аварии на Чернобыльской АЭС, массивными выбросами в атмосферу продуктов переработки углеводородной, металлургической и нефтехимической промышленности, автотранспорта [2]. Экзогенные факторы способствуют увеличению нагрузки на иммунную систему, что вызывает изменение ее параметров, приводят к снижению адаптационных возможностей организма.

Необходимость поиска эффективных и доступных иммунокорректоров определяется целым

рядом причин, среди которых выделяется высокий уровень смертности и склонность к инвалидизации, так как на фоне патологии иммунной системы усугубляется течение практически любого заболевания [6, 8]. Внедрение иммуотропных препаратов в медицинскую практику необходимо проводить с учетом результатов комплексных морфологических исследований, целью которых является всестороннее изучение систем организма, участвующих в поддержании гомеостаза [1, 4, 5].

Структура паращитовидных желез активно реагирует на действие разнообразных экзогенных факторов, однако, данные относительно морфологических особенностей строения органа в условиях изменения иммунного статуса от-

сутствуют. Внимание большинства исследователей, работающих в данном направлении, нацелено в основном на изучение иммуногистохимических и иммунологических особенностей паращитовидных желез.

Настоящая работа является составной частью научно-исследовательской темы кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии «Особенности строения органов иммунной, эндокринной и нервной систем при иммуностимуляции и иммуносупрессии», государственный регистрационный номер 0112U000096.

Целью исследования явилось установление особенностей электронно-микроскопического строения паращитовидных желез белых крыс при иммуносупрессии, вызванной введением высоких доз цитостатика циклофосфана, с последующей коррекцией иммуномодулирующим препаратом имунофаном.

Материалы и методы. Исследование проведено на 24 половозрелых белых крысах-самцах с массой тела 180 ± 10 г на момент начала эксперимента, полученных из вивария лабораторных животных ГЗ «Луганский государственный медицинский университет». Содержание и уход за животными осуществляли согласно закону Украины «Про захист тварин від жорстокого поводження» (21.02.06, № 3447), положенням Европейского научного общества «Использование животных в исследованиях (2000)». Соблюдение основных биоэтических норм при проведении эксперимента подтверждено заключением комиссии по вопросам биоэтики ГЗ «Луганский государственный медицинский университет» (протокол № 1 от 14.02.2013 г.). Иммуносупрессивное состояние моделировалось с помощью введения алкилирующего цитостатического препарата циклофосфана («Циклофосфан-КМП», ОАО «Киевмедпрепарат», регистрационный номер №UA/6489/01/01), который относится к представителям группы хлорэтиламинов, однократно внутримышечно в дозировке 200 мг/кг. Иммунокоррекция достигалась введением производного тимического гормона имунофана (НПП «Бионокс», Россия, регистрационный номер UA/0318/01/01) один раз в сутки по 50 мг/кг на 1, 3, 5, 7, 9 сутки. Контролем служили интактные крысы-самцы. Животных выводили из эксперимента на 3 и 30 сутки после завершения введения препаратов. Для электронно-микроскопического исследования кусочки паращитовидной железы размером 1 мм^3 погружали в глутаральдегидный фиксатор по Карновскому на 24 часа, затем помещали в 1% тетраоксид осмия по Палладе на 1 час. После дегидратации в этаноле возрастающей концентрации и абсолютном ацетоне материал заливали смесью эпоксидных смол (эпон-аралдит). Полимеризацию проводили на протяжении 36 часов при 56°C . Ультратонкие срезы изготавливали на ультратоме УМТП-4 Сумского ПО «Электрон», контрастировали в насыщенном растворе уранилацетата и цитрата свинца по Рейнольдсу и просматривали в электронном микроскопе EM-125. Исследуемый материал документировали в виде негативных и позитивных фотоотпечатков.

Изучали ультраструктуру паращитовидных желез в норме, а также после коррекции иммунодефицитного состояния имунофаном.

Результаты и их обсуждение. В морфологии большое внимание уделяется представлению о структурно-функциональной единице органа, поскольку она представляет собой комплексную систему, включающую в себя разнообразные тканевые компоненты, и является, по мнению Н. Isono (1990), эквивалентной органу [7]. В паращитовидной железе такой структурно-функциональной единицей является трабекула. Трабекулы у белых крыс контрольной группы представлены эпителиальными тяжами паратироцитов, разделенными тонкими прослойками рыхлой соединительной ткани с многочисленными капиллярами.

Соседние эндокриноциты соединены между собой мощными межклеточными контактами, включающими в себя десмосомы и зоны облитерации. Каждая паращитовидная железа окружена собственной соединительнотканной капсулой, которая несколько тоньше, чем капсула щитовидной железы. Капсула имеет типичное строение и состоит из коллагеновых волокон и небольшого количества сильно уплотненных фиброцитов. Иногда в толще капсулы, особенно на границе околощитовидной и щитовидной железы, обнаруживаются миелиновые и безмиелиновые нервные волокна. От капсулы внутрь железы отходят тонкие трабекулы, по которым в ее паренхиме проникают нервные волокна, мелкие сосуды и многочисленные капилляры.

По данным ультрамикроскопического исследования основную массу паренхимы паращитовидных желез контрольной группы животных составляют главные паратироциты, вырабатывающие паратирин, играющий важную роль в регуляции фосфорно-кальциевого обмена. В зависимости от функциональной активности главные паратироциты разделяют на светлые и темные клетки. Такое разделение связано с их различной функциональной активностью. «Покоящиеся» светлые паратироциты составляют основную популяцию клеток паращитовидной железы. Они имеют светлую цитоплазму, небольшого объема комплекс Гольджи и эндоплазматическую сеть, единичные митохондрии. В их цитоплазме отмечаются многочисленные одиночные липидные капли, обильные скопления гликогена.

Темные главные паратироциты расположены в железе небольшими группами и поодиночке. Они содержат хорошо выраженные органеллы синтеза, секреторные гранулы и незначительное количество липидных капель и гликогена.

У интактных крыс репродуктивного возрастного периода выявлены единичные оксифильные клетки, которые отличаются обильным содержанием крупных митохондрий с многочисленными поперечными кристами. Комплекс Гольджи и эндоплазматическая сеть не выражены. Контуры оксифильных паратироцитов по сравнению с типичными светлыми клетками более ровные, эти клетки не принимают участия в секреции паратормона (рис. 1).

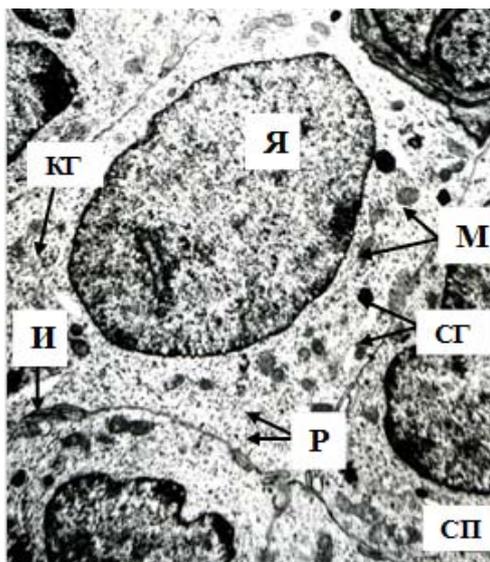


Рис. 1. Паращитовидная железа крысы контрольной группы: СП - светлый паратироцит, Я - ядро, КГ - комплекс Гольджи, СГ - секреторные гранулы, М - митохондрия, И - интердигитации, Р - рибосомы. x8000

На 3 сутки после коррекции иммуносупрессии наблюдается изменение формы ядер паратироцитов. Большая часть эндокриноцитов имеет неправильную продолговатую форму, четкие границы и хорошо выраженные межклеточные контакты, в единичных клетках выявлены признаки некроза.

Ядра паратироцитов смещены на периферию, содержат многочисленные углубления на боковой поверхности. Электронная плотность ядер повышена по сравнению с нормой, хроматин располагается небольшими скоплениями на его периферии. Возрастает количество митохондрий, которые имеют бобовидную или продолговатую форму с глубокими поперечными кристами и повышенной электронной плотностью их матрикса. В цитоплазме клеток происходит увеличение количества секреторных гранул высокой электронной плотности, которые размещены вдоль плазмолеммы. Капилляры несколько сужены, в них отмечаются сладжи эритроцитов (рис. 2, 3).

Через 30 суток после введения иммуномодулятора в паренхиме железы появляется значительное количество темных главных паратироцитов. Они располагаются в паренхиме железы небольшими группами по 2-3 клетки. Темные клетки более компактные, богаче органеллами синтеза и секреции. Комплекс Гольджи занимает значительные участки цитоплазмы, цистерны гранулярной эндоплазматической сети расположены вдоль ядра, по всей цитоплазме клетки разбросаны многочисленные рибосомы. Ядрышки на срезах встречаются довольно редко и имеют небольшие размеры.

У светлых клеток ядро имеет округлую форму, расположено несколько эксцентрично. В цитоплазме светлых клеток увеличивается количество свободных рибосом, а также численность секреторных гранул средней электронной плотности по сравнению с таковыми в контрольной группе. Небольшие группы митохондрий средней электронной плотности находятся в непосредственной близости к

ядру клетки. Комплекс Гольджи расширяется, среди его элементов увеличивается количество углубленных мешочков и микропузырьков (рис. 4, 5).

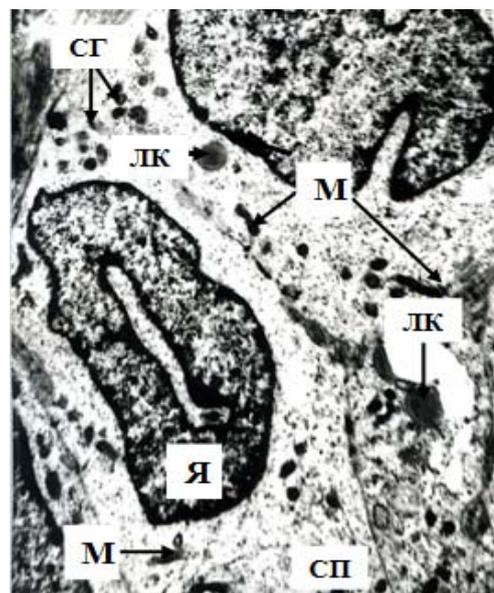


Рис. 2. Паращитовидная железа крысы на 3 сутки после проведения иммунокоррекции: СП - светлый паратироцит, Я - ядро, ЛК - липидная капля, М - митохондрия, СГ - секреторные гранулы. x8000.

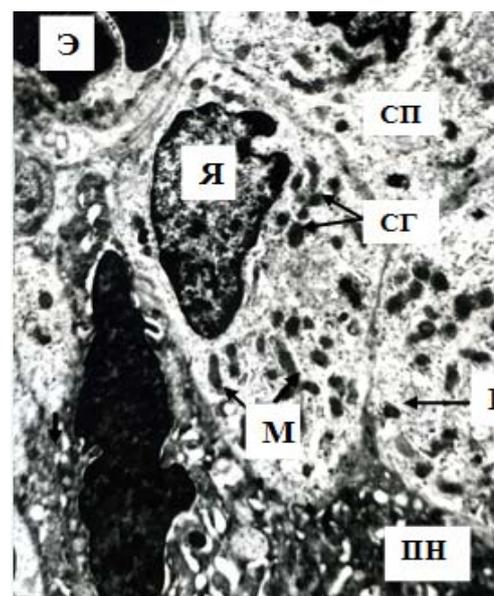


Рис. 3. Паращитовидная железа крысы на 3 сутки после проведения иммунокоррекции: СП - светлый паратироцит, Я - ядро, Э - эритроцит, СГ - секреторные гранулы, Р - рибосомы, М - митохондрии, ПН - признаки некроза. x8000.

Особенности ультраструктуры паращитовидных желез интересовали многих ученых середины XX века, однако, до сих пор ответы на многие вопросы относительно морфореактивности органа не найдены. Интерес большинства исследователей направлен в сторону изучения морфологии паращитовидных желез при гипо- и гиперпаратиреозе, а также изменениях фосфорно-кальциевого гомеостаза, что связано с достаточно высокой частотой встречаемости подобных нарушений в клинической практике [3, 7, 9].

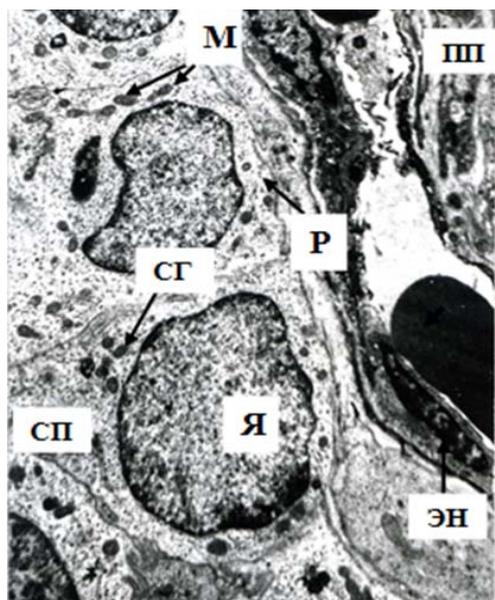


Рис. 4. Паращитовидная железа крысы на 30 сутки после проведения иммунокоррекции: СП – светлый паратироцит, Я – ядро, ШП – перикапиллярное пространство, М – митохондрии, ЭН – эндотелиоцит, СГ – секреторные гранулы, Р - рибосомы. x8000.

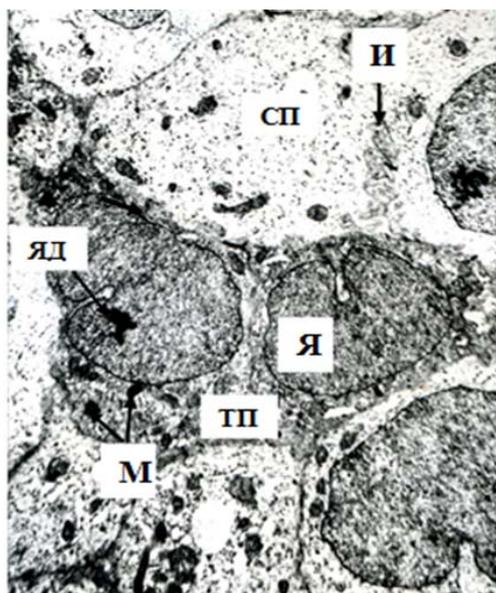


Рис. 5. Паращитовидная железа крысы на 30 сутки после проведения иммунокоррекции: СП – светлый паратироцит, ТП – темный паратироцит, Я – ядро, ЯД – ядрышко, И - интердигитации, М - митохондрии. x8000.

Вместе с тем публикаций, которые бы отражали изменения в ультраструктуре паращитовидной железы крыс при иммунодефектных состояниях и их коррекции, не найдено. Стремительное ухудшение иммунного статуса населения, связанное с увеличением стрессовой нагрузки на иммунную систему, обосновывает необходимость изучения органа на субмикроскопическом уровне организации.

Выводы:

1. Проведенное исследование паращитовидных желез показало, что введение терапевтической дозы иммунофана после предшествующего

введения циклофосфана способствует интенсивному развитию органелл синтеза и увеличению количества секреторных гранул в цитоплазме паратироцитов на 3 сутки после введения препарата.

2. В ранние сроки наблюдения (3 сутки) ядра паратироцитов имеют повышенную электронную плотность, а также нетипичную форму с многочисленными боковыми вырезками, которая характерна для клеток при введении циклофосфана.

3. На 30 сутки происходит нормализация формы ядер паратироцитов, увеличение количества темных «активных» эндокриноцитов, что отражает стабилизацию синтетических процессов в клетках.

4. Динамика изменений ультрамикроскопического строения паращитовидных желез при использовании иммунофана в качестве корректора циклофосфан-индуцированной иммуносупрессии свидетельствует о его активной роли в нормализации морфоструктуры органа.

В перспективе планируется осветить особенности ультрамикроскопического строения паращитовидных желез белых лабораторных крыс при иммуностимуляции.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Юшков В. В. Качественная информация рациональному использованию иммунокорректоров / В. В. Юшков // Вестник Уральской медицинской академической науки. – 2011. - № 2-2 (35). – С. 76-77.
2. A review of low-level air pollution and adverse effects on human health: implications for epidemiological studies and public policy / N. R. Simões Olmo, P. H. Saldiva, A. L. Braga [et al.] // Clinics. - 2011. – V. 66. – P.681–690.
3. Effect of low calcium diet on the structure of the rat parathyroid gland / H. Chen, D. Hayakawa, S. Emura [et al.] // Okajimas Folia Anatomica Japonica. - 2001. – V. 78. – P. 153-160.
4. Finegold I. Recent advancements in immunotherapy / I. Finegold // Immunotherapy. – 2012. - V. 4, N. 2. – P. 149-150.
5. Helbig E. T. Adjuvant immunotherapies as a novel approach to bacterial infections / E. T. Helbig, B. Opitz, L. E. Sander // Immunotherapy. – 2013. - V. 5, N. 4. - P. 365-381.
6. How to determine life expectancy of air pollution mortality: a time series study / A. Rabl, T. Q. Thach, P. Y. K. Chau // Environmental health. – 2011. – V. 10. – P. 2-16.
7. Isono H. Ultrastructure of the parathyroid gland / H. Isono, S. Shoumura, S. Emura // Histology and histopathology. – 1990. – V. 5. – P. 95-112.
8. Population dynamics and air pollution: the impact of demographics on health impact assessment of air pollution / E. M. Flachs, J. Sørensen, J. Bønløkke [et al.] // Journal of Environmental and Public Health. – 2013. - V. 2013. - P. 1-12.
9. The ultrastructure of the parathyroid gland in cadaveric embalmed specimens / K. Chatyingmongkol, J. Roongruangchai, K. Pilakasiri // Siriraj Medical Journal. – 2008. – V. 60. – P. 7-9.

Надійшла 18.11.2013 р.

Рецензент: проф. В.Г.Ковешніков