

УДК: 591.444:615.27

С.А.Кащенко, М.В. Гончарова ОРГАНОМЕТРИЧЕСКИЕ И МОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЕ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ИММУНОСУПРЕССИИ

ГЗ «Луганский государственный медицинский университет»

Кащенко С. А., Гончарова М. В. Органометрические и морфометрические изменения в щитовидной железе при экспериментальной иммуносупрессии // Украинский морфологический альманах. – 2014. – Том 12, № 2. – С. 114-116.

В работе проведен сравнительный анализ органометрических, морфометрических и гормональных изменений щитовидной железы неполовозрелых крыс-самцов после однократного воздействия цитостатического препарата (циклофосфан) в высокой дозировке. В эксперименте использовано 36 крыс-самцов массой 180 ± 10 г. Животные были разделены на две группы. В первую группу входили крысы, которым однократно вводился циклофосфан (200 мг/кг). Вторую группу составили интактные животные. Забор материала проводился на 7, 30, 90 сутки наблюдения. В ходе исследования выявлено, что наиболее выраженное снижение морфометрических показателей (уменьшение диаметра фолликулов и высоты тироцитов) наблюдалось на 7 и 30 сутки после введения препарата. На 90 сутки - полученные данные приближались к показателям контрольной группы животных.

Ключевые слова: щитовидная железа, крысы, органометрия, морфометрия, гормоны Т3, Т4, циклофосфан.

Кащенко С. А., Гончарова М. В. Органометричні та морфометричні зміни щитоподібної залози при експериментальній імуносупресії // Український морфологічний альманах. – 2014. – Том 12, № 2. – С. 114-116.

У роботі проведено порівняльний аналіз органометричних, морфометричних та гормональних змін щитоподібної залози статевонезрілих щурів-самців після однократного вливу цитостатичного препарату (циклофосфан) у великому дозуванні. Тварини були розділені на дві групи. До першої групи входили тварини, яким одноразово вводили циклофосфан (200 мг/кг). Другу групу склали інтактні щури. Забір матеріалу проводився на 7, 30, 90 добу спостереження. У ході дослідження виявлено, що найбільш виражене зниження всіх показників спостерігається на 7 і 30 добу. На 90 добу експерименту, отримані дані наближаються до показників контрольної групи тварин.

Ключові слова: щитоподібна залоза, щури, органометрія, морфометрія, гормони Т3, Т4, циклофосфан.

Kashchenko S. A., Goncharova M.V. Organometric and morphometric changes in the thyroid gland at the experimental immunosuppression // Український морфологічний альманах. – 2014. – Том 12, № 2. – С.114-116.

The comparative analysis of organometric, morphometric and hormonal changes in the thyroid gland of the immature male rats after a single exposure of cytostatic drug (cyclophosphanum) in high dosage was carried out. Animals were divided into two groups. The first group consisted of rats that were injected once with cyclophosphanum (200 mg/kg). The second group consisted of the intact animals. Taking of the material was conducted on the 7th, 30th, 90th day of observation. The study revealed that the most pronounced decrease of morphometric parameters (reducing the diameter and height of follicles thyrocytes) observed on the 7th and 30th day. On the 90 th day the data are close to those of the control group of animals.

Key words: thyroid gland, rats, organometry, morphometry, hormones T3, T4, cyclophosphanum.

Вступление. Чернобыльская катастрофа привела к загрязнению более 145 тысяч квадратных километров территории Украины, Республики Беларусь и Российской Федерации, при этом пострадало около 5 миллионов человек. В результате последствий радиоактивного воздействия в организме происходят сбои в работе как эндокринной, так и иммунной систем. По сведениям украинских учёных численность тиреоидной патологии ежегодно возрастает [1, 10, 11]. При наличии многочисленных публикаций иммунологического характера, в научной литературе недостаточно отображены морфологические изменения щитовидной железы вследствие возникновения иммунодефицитного состояния. Вместе с тем, именно изменения со стороны морфоструктуры органа лежат в основе разнообразных клинических проявлений.

В этой связи **целью** настоящего исследования послужило выявление изменений в органометрических и морфометрических параметрах щитовидной железы в эксперименте после однократного применения препарата цитостатического ряда (циклофосфан). Работа является частью научно-исследовательской темы кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии ГЗ «Луганский государственный медицинский университет» «Особенности строения органов иммунной и эндокринной систем при иммуности-

муляции и иммуносупрессии», Государственный регистрационный номер 0112U000096.

Материалы и методы. Эксперимент выполнен в сертифицированной морфологической лаборатории (сертификат № 013/11 от 30.12.2011), кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии ГЗ «Луганский государственный медицинский университет». В эксперименте использовано 36 неполовозрелых крыс-самцов массой 180 ± 10 г. Животные были разделены на две группы. В первую группу входили крысы, которым однократно вводился циклофосфан (200 мг/кг). Вторую группу составили контрольные (интактные) животные. Забор материала проводился на 7, 30, 90 сутки после инъекции. Содержание и уход за животными осуществляли согласно Закону Украины «Про захист тварин від жорстокого поводження» № 1759-VI от 15.12.2009 и с учетом принципов биоэтики, изложенных в Хельсинской декларации. Щитовидную железу извлекали вместе с трахео-гортанным комплексом, после препарирования взвешивали на аналитических весах ВЛА-200 с точностью до 1 мг. Органометрия щитовидной железы включала измерение длины, толщины и ширины каждой доли с использованием штангенциркуля [4].

После органометрии щитовидную железу фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина, подвергали стандартной гистологической проводке, изготавливали срезы толщи-

ной 5-7 мкм и окрашивали гематоксилином-эозином. Анализ изображений проводили при помощи аппаратно-программного комплекса, включающего световой микроскоп Olympus CX41, фотоаппарат Olympus C500UZ, персональный компьютер и программу «Morpholog» [6]. Статистический анализ полученных результатов осуществлялся на персональном компьютере, с использованием программы «Statistica» для MS EXCEL. Достоверность расхождения экспериментальных и контрольных данных оценивали с использованием критерия Стьюдента, достоверным считали вероятность ошибки, которая была меньше или равна 5% ($p \leq 0,05$).

Уровень тиреоидных гормонов - свободного тироксина (T_4) и трийодтиронина (T_3) в сыворотке крови крыс определялся методом твердофазного иммуноферментного анализа на приборе «Multiscan plus» (фирма Labsystems, Финляндия) с использованием стандартных наборов реагентов «ТиридИФА-свободный T_4 » и «ТиродИФА-трийодтиронин-01».

Результаты и их обсуждение. Щитовидная железа и система регуляции её функциональной активности обладает высокой чувствительностью к многообразным воздействиям [8]. В ответ на физические, химические и другие многочисленные факторы отмечаются изменения как со стороны морфоструктуры, так и со стороны гормонообразующей активности железы [3, 7, 9]. Щитовидная железа крысы представляет собой небольшое образование бледно-оранжевого цвета, состоящее из двух долей (правой и левой). Вытянутые доли расположены с обеих сторон трахен каудальнее гортани, они занимают пространство между четвертым и пятым трахейными кольцами и соединены тонким перешейком. Железа обильно снабжена кровеносными сосудами, снаружи покрыта фиброзной капсулой, разделена на множественные доли, составляющие основу ее структуры. Главная функционирующая ткань железы — паренхима, состоит из фолликулов, содержащих коллоид [5] (рис.1). На базальной мембране фолликула в один ряд располагаются тироциты кубической формы. Ядра тироцитов имеют округлую форму, хроматин распределяется равномерно и окрашивается базофильно. Цитоплазма и коллоид, расположенный в полости фолликулов, окрашиваются оксифильно. Между фолликулами, в межфолликулярной рыхлой волокнистой соединительной ткани, расположены лимфоциты, тучные клетки и парафолликулярные эндокриноциты, а также многочисленные кровеносные и лимфатические сосуды, оплетающие фолликулы.

После однократного введения подопытным животным высокой дозы циклофосфана наблюдается снижение функциональной активности железы, что подтверждается данными органомерметрического и морфометрического анализов. О функциональных нарушениях в тиреоидной системе животных свидетельствуют результаты иммуноферментного анализа: снижение уровня содержания тиреоидных гормонов в сыворотке крови, особенно T_4 , (на 7 сутки-62 %, на 30 сутки-36 %) в сравнении с контрольными показателями ($p \leq 0,05$) (рис.2).

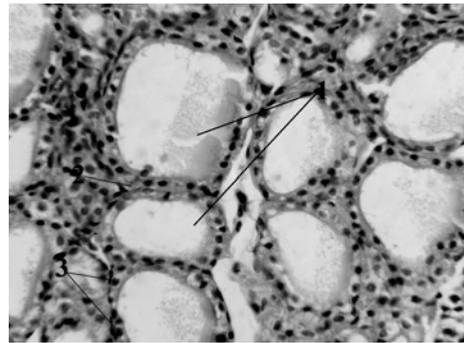


Рис. 1. Щитовидная железа крысы интактной группы. 1 – фолликулы щитовидной железы, 2 – кровеносный сосуд, 3 – ядра тироцитов. Окраска гематоксилином-эозином. Увеличение: Zoom 18,5. Объектив: PlanC N 10x/0.25 /- /FN22.

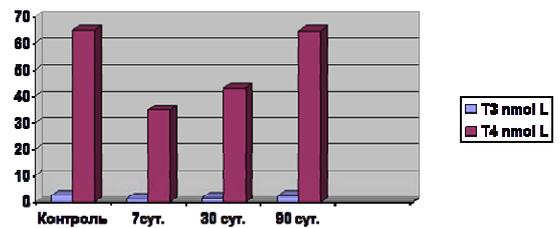


Рис. 2. Показатели гормональной активности щитовидной железы в разные сроки после однократного введения высокой дозы циклофосфана.

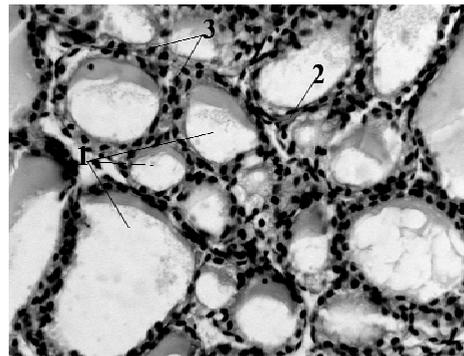


Рис. 3. Щитовидная железа (7 сут.). 1 – фолликулы щитовидной железы, 2 – кровеносный сосуд, 3 – ядра тироцитов. Окраска гематоксилином-эозином. Увеличение: Zoom 18,5. Объектив: PlanC N 10x/0.25 /- /FN22

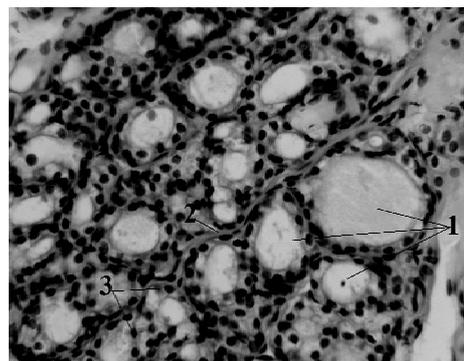


Рис. 4. Щитовидная железа (90 сут.). 1 – фолликулы щитовидной железы, 2 – кровеносный сосуд, 3 – ядра тироцитов. Окраска гематоксилином-эозином. Увеличение: Zoom 18,5. Объектив: PlanC N 10x/0.25 /- /FN22

Морфологическая конструкция органа сохраняется, ярко выраженных на светооптическом уровне изменений в щитовидной железе не отмечается (рис. 3, 4). Паренхима состоит преимущественно из мелких и средних фолликулов, которые имеют округлую или овальную

форму. В отдельных фолликулах отсутствует коллоид. Фолликулярный эпителий кубической или уплощенной формы, встречаются светлые клетки. Отдельные тироциты отделяются от базальной мембраны, слущиваются и свободно располагаются в полости фолликулов.

Данные органометрии указывают на изменение размеров органа (табл. 1), а морфометрии (табл. 2) - на уменьшение диаметра фолликулов (от 15,9 до 19,3 %), высоты тироцитов (до 28%) на 7 сутки наблюдения. На 30 сутки наблюдения сохраняется та же тенденция. Выявленные морфологические признаки соответствуют снижению функциональной активности органа. При установленных изменениях со стороны диаметра фолликула и высоты тироцитов количество

клеток на единице площади препарата не имеет достоверных отличий от контрольных цифр вплоть до 90-х суток наблюдения.

Нормализация органо- и морфометрических показателей щитовидной железы, в основном, наблюдается через 90 суток после инъекции циклофосфана. Возрастает высота тироцитов в эпителиальной выстилке фолликулов, а также увеличивается диаметр самих фолликулов. Основное количество фолликулов содержит коллоид, кровеносные сосуды соединительной ткани характеризуются полнокровием, что свидетельствует об усилении васкуляризации органа. Наблюдается активизация метаболизма в тиреоидной паренхиме, о чем свидетельствует увеличение содержания гормона T₄ в сыворотке крови крыс на 90 сутки наблюдения.

Таблица 1. Органометрические показатели щитовидной железы крыс в разные сроки наблюдений

Группы животных	М крысы (г)	М органа (мг)	Длина (мм)	Ширина (мм)	Толщина (мм)
7 сутки ЦФ	201,33±2,87*	18,5±0,37*	2,95±0,09*	2,05±0,09	1,37±0,05
контроль к 7 суткам	231,83±3,54	19,33±0,23	3,18±0,05	2,08±0,09	1,35±0,05
30 сутки ЦФ	214,83±6,53*	18,83±0,44*	3,05±0,05*	2,08±0,09	1,37±0,07*
контроль к 30 суткам	266,83±2,99	22,5±0,37	3,67±0,14	2,83±0,06	1,78±0,06
90 сутки ЦФ	291,5±3,16*	24,5±0,93	3,45±0,12*	2,73±0,11	1,67±0,04*
контроль к 90 суткам	310,33±2,74	27,1±0,63	3,82±0,04	3,08±0,18	1,97±0,01

Таблица 2. Морфометрические показатели щитовидной железы крыс в разные сроки наблюдений

Группы животных	Количество ядер на ед. площади	Высота тироцита (мкм)	Больший диаметр фолликула (мкм)	Меньший диаметр фолликула (мкм)
7 сутки ЦФ	92,33±2,54*	4,73±0,21*	245,4±11,02*	225,4±3,74*
Контрольная группа	101,75±3,46	6,65±0,21	291,62±8,43	279,3±10,29
30 сутки ЦФ	94,25±1,41*	5,2±0,24*	260,2±12,18*	230,1±9,55*
Контрольная группа	99,3±2,14	6,95±0,38	345,2±13,22	277,5±5,97
90 сутки ЦФ	99,25±2,99	5,88±0,28	279,2±11,75	312,4±15,49
Контрольная группа	104,55±3,46	7,93±0,37	319,87±15,53	270,57±10,68

Таким образом, в результате проведенного исследования можно сделать следующие **ВЫВОДЫ**:

1. Однократное введение высокой дозы циклофосфана неполовозрелым крысам вызывает выраженную перестройку в морфоструктуре щитовидной железы на ранних сроках наблюдения (7, 30 сутки).

2. Через 3 месяца после введения препарата наблюдается относительная нормализация морфометрических параметров железы и её гормонального гомеостаза.

В перспективе планируется изучить влияние иммуностимуляторов на морфоструктуру щитовидной железы белых беспородных крыс.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ:

- Бобирьова Л. Є. Епідеміологічні дослідження радіаційно-обумовленої патології щитоподібної залози по Полтавській, Житомирській областях і по Україні в цілому у післячорнобильський період / Л. Є. Бобирьова // Обласна науково-практична конференція «Медико-генетичні та екологічні проблеми Чорнобильської катастрофи через 15 років», 19 квітня 2002 року. — Полтава, — 2001. - С. 4-14.
- Закон України «Про захист тварин від жорстокого поводження», № 1759-VI, від 15.12.2009.
- Рыкова Ю. А. Морфофункциональные изменения щитовидной железы крыс при воздействии на организм умеренной хронической гипертермии / Ю. А. Рыкова // Український морфологічний альманах. — 2008. — Т. 6, № 1. — С. 142–146.
- Ковешников В. Г. Алгоритм морфологического

исследования щитовидной железы / В. Г. Ковешников, К. А. Фомина // Таврический медико-биологический вестник. — 2008. — Т. 11. № 3, ч. 1. — С. 65-68.

5. Ноздрачев А. Д. Анатомия крысы. / А. Д. Наздрачев, Е. Л. Поляков // — СПб.: Лань 2001, С. - 157-158.

6. Овчаренко В. В. Комп'ютерна програма для морфометричних досліджень «Master of Morphology» / В. В. Овчаренко, В. В. Маврич // Свідчення про реєстрацію авторського права на винахід № 9604, дата реєстрації 19.03.2004.

7. Особенности строения щитовидной железы крыс различных возрастных периодов при иммунодефицитном состоянии, вызванном тимэктомией / В. В. Маврич, Е. С. Болгова, О. В. Попов, А. В. Шатохин // Український морфологічний альманах. - 2005. - №3 - С.18-22.

8. Фомина К.А. Сравнительная морфологическая характеристика щитовидной железы человека и крыс в пренатальном и постнатальном периодах онтогенеза / К. А. Фомина, В. В. Сикора // «Вісник СумДУ. Серія Медицина». — 2009. - № 1 — С. 34-36.

9. Кувенева О. Н. Морфометрические изменения мышевидных грызунов после облучения / О. Н. Кувенева, С. Н. Радионов, С. А. Кащенко // Вісник ЖНАЕУ. Ветеринарна медицина. — 2012. - № 1 (32). — С. 315-317.

10. Cheban A. Chernobyl disaster non stochastic effects on thyroid / A. Cheban // International Journal of Radiation Medicine. — 1999. — Vol. 3-4 (3-4). — P. 76-93.

11. USSR State Committee on the Utilisation of Atomic Energy «The Accident at the Chernobyl NPP and its Consequences» IAEA Post Accident Review Meeting, Vienna, 25–29 August, 1986.

Надійшла 17.03.2014 р.
Рецензент: проф. В.І. Лузін