

В.В.Ерохина
О.В.Авилова

Харьковский национальный медицинский университет

Ключевые слова: паращитовидная железа, крысы, ультраструктура, эндокринный паратиреоцит, циклофосфамид.

Надійшла: 14.11.2017
Прийнята: 13.12.2017

УДК: 591.444.5:615.277

УЛЬТРАМИКРОСКОПИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ПАРАЩИТОВИДНЫХ ЖЕЛЕЗ КРЫС ПОСЛЕ ИММУНОСУПРЕССИИ

Реферат. Целью работы было изучение ультрамикроскопического строения паращитовидных желез белых крыс в условиях иммуносупрессии, вызванной введением циклофосфамида. Исследование проведено на 24 крысах-самцах с исходной массой тела 180 ± 10 , которым вводили циклофосфамид однократно внутримышечно в дозировке 200 мг/кг. Паращитовидные железы исследовали на 7 и 30 сутки после введения препарата. На 7 сутки после иммуносупрессии выявляется изменение формы ядер паратиреоцитов, снижение количества органелл, включенных в полипептидный синтез, увеличение численности липидных и коллоидных капель в цитоплазме клеток. На 30 сутки наблюдения отмечается тенденция к нормализации морфоструктуры органа.

Morphologia. – 2017. – Т. 11, № 4. – С. 35-39.

© В.В.Ерохина, О.В.Авилова, 2017

✉ sha1936@rambler.ru, ukraine.doctor2015@gmail.com

Erokhina V.V., Avilova O.V. Ultramicroscopic changes of rat parathyroid glands after immunosuppression.

ABSTRACT. Background. Parathyroid glands actively respond to exogenous and endogenous factors that confirmed by a number of fundamental researches. Currently there are no comprehensive morphological works devoted to the study of ultramicroscopic features of parathyroid glands during immune status changing. Cyclophosphamide is widely used in the clinical practice. It's belongs to a class of drugs known as alkylating agents, which have been used to treat some types of cancer. **Objective.** 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. **Methods.** The study was conducted on 24 outbred male mature rats with the weight 180 ± 10 g. Maintenance and care of animals were conducted in according to the norms of bioethics. The animals received an intramuscular injection of cyclophosphamide in a dose of 200 mg/kg body weight. The animals were withdrawn from the experiment on the 7th and 30th day after the injection. The ultrastructure of rat parathyroid glands in normal condition as well as after immunosuppression was studied. **Results.** The parenchyma of the parathyroid glands of intact animals is composed of two cell types: chief cells and oxyphil cells. Principal (chief) cells are the most numerous type of the gland's parenchyma. They are small, polygonal cells, with a centrally located nucleus. The cytoplasm of the chief cells contains well-developed rough endoplasmic reticulum and Golgi apparatus. There are numerous dense secretory vesicles, large accumulations of glycogen, and lipid droplets in the cytoplasm. Oxyphil cells constitute a minor portion of the parenchymal cells. The cells are more rounded, considerably larger than the principal cells. Mitochondria, often with bizarre shapes and sizes, almost fill the cytoplasm and are responsible for the strong acidophilia of these cells. No secretory vesicles and little if any rough endoplasmic reticulum are present. Cytoplasmic inclusion bodies consist of occasional lysosomes, lipid droplets, and glycogen distributed among the mitochondria. **Conclusion.** The introduction of cyclophosphamide to rats in high doses caused marked changes in the ultrastructure of the organ. Polymorphism of cell nuclei, reducing the amount of the organelles that are participate in the protein synthesis, reducing the number of secretory granules, increasing the number of lipid and colloid droplets in the cell cytoplasm were observed in the early period of observation (7th day). On the 30th day after the administration of cyclophosphamide tendency to normalization of morphological structure of the organ revealed.

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

Citation:

Erokhina VV, Avilova OV. [Ultramicroscopic changes of rat parathyroid glands after immunosuppression]. *Morphologia*. 2017;11(4):35-9. Russian.

Введение

На сегодняшний день считается, что основной регуляцией жизнедеятельности организма является взаимодействие нервной, эндокринной и иммунной систем. Иммунный ответ организма - процесс высоко специфический, однако его интенсивность неспецифически регулируется нейрогуморальным способом. Как правило, ан-

тиген вызывает активацию антиген-чувствительных клеточных элементов, которые продуцируют множество биологически активных веществ. В то же время, иммунная система практически постоянно подвергается регулируемому влиянию большинства гормонов и медиаторов, а некоторые цитокины даже секретируются клетками нервной системы в ответ на тканевое по-

вреждение [1; 2].

В настоящее время установлено, что иммунная система влияет на активность основных популяций клеток в костной ткани. В комплексных исследованиях получены данные о взаимодействии костной и иммунной систем [3; 4]. Так, функционирование костной ткани напрямую зависит от деятельности паращитовидных желез. Последние вырабатывают паратгормон, который влияет на всасывание кальция в кишечнике, мобилизацию кальция из костной ткани, экскрецию кальция вместе с физиологическими жидкостями. Все вышесказанное указывает на то, что исследование особенностей строения паращитовидных желез в условиях изменения состояния организма является актуальным вопросом экспериментальной медицины [5].

Проблема онкологических заболеваний чрезвычайно актуальна для всего общества. В настоящее время в терапии онкологических больных ведущее место занимает использование химиопрепаратов. Достижения современной химиотерапии позволили добиться успехов в излечении многих злокачественных новообразований, ранее считавшихся фатальными. Повышение эффективности лечения достигнуто благодаря разработке и использованию в клинической практике эффективных цитостатических препаратов. На сегодняшний день одним из препаратов выбора является препарат алкилирующего типа действия циклофосфамид. Паращитовидные железы обладают выраженной морфофункциональной активностью под влиянием разнообразных экзогенных факторов [6]. Однако данные относительно структуры паращитовидных желез на ультрамикроскопическом уровне после введения цитостатических препаратов практически отсутствуют, поэтому изучение этого вопроса вызывает огромный интерес.

Целью настоящей работы было изучение ультрамикроскопического строения паращитовидных желез беспородных белых крыс в условиях иммуносупрессии, вызванной введением циклофосфамида.

Материалы и методы

В качестве подопытных животных были использованы 24 белые беспородные крысы-самцы половозрелого возрастного периода с исходной массой тела 180 ± 10 г, полученные из вивария лабораторных животных Харьковского национального медицинского университета. Содержание и уход за животными осуществляли согласно закона Украины «Про захист тварин від жорстокого поводження» (№1759-VI от 15.12.2009), положением Европейского научного общества «Использование животных в исследованиях (2000)». Животные были разделены на 2 группы по 12 самцов в каждой. Крысам первой группы вводили однократно циклофосфамид в дозировке 200 мг/кг однократно внутримышечно. Вто-

рую группу составили интактные животные. После окончания сроков наблюдения (7 и 30 суток) крыс выводили из эксперимента. 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 ультрамикротоме УМТП-4 Сумского ПО «Электрон», контрастировали в насыщенном растворе уранилацетата и цитрата свинца по Рейнольдсу и просматривали в электронном микроскопе EM-125. Исследовали ультраструктуру эндокринных паратироцитов при увеличении $\times 8000$.

Результаты и их обсуждение

По данным электронно-микроскопического исследования выявлено, что основными клеточными популяциями паращитовидной железы являются главные (светлые и темные) и оксифильные эндокринные паратироциты, которые по данным литературы являются типичными представителями паренхимы паращитовидных желез [7; 8].

Ультраструктура главных клеток паращитовидных желез интактных крыс строго коррелирует с их функциональной активностью, поскольку они являются главными продуцентами паратгормона. Большинство эндокриноцитов паращитовидных желез половозрелых самцов, как правило, неактивно. Неактивные светлые паратироциты в отличие от активных темных клеток имеют более светлую цитоплазму, единичные цистерны гранулярной эндоплазматической сети, небольшого объема комплекс Гольджи, единичные митохондрии. В цитоплазме светлых паратироцитов отмечаются многочисленные одиночные липидные гранулы, сложные крупные шары («липидный пул»), обильные скопления гликогена. Главные клетки окружены одиночной плазмолеммой. Мембраны соседних паратироцитов образуют ветвистые интердигитации. Изредка между смежными клетками встречаются десмосомы.

В сосудистом полюсе, непосредственно под плазмолеммой, наблюдается базальная мембрана толщиной примерно 20 нм.

Ядро главных темных клеток паращитовидных желез интактных животных крупное, округлой формы, хроматин в нем распределен равномерно. Встречается небольшого объема ядрышко. Соседние клетки соединены сложными интердигитациями, что может свидетельствовать о вовлечении значительной площади плазмолеммы в синтетические процессы. Главным отличительным признаком темных эндокриноцитов является наличие параллельно расположенных цистерн гранулярной эндоплазматической сети и хорошо

развитого комплекса Гольджи, диктиосомы которого занимают значительные участки цитоплазмы. В этих клетках значительно увеличивается численность секреторных гранул, количество гликогена и липидных гранул уменьшается. На единичных участках встречаются слияния мембраны секреторных гранул с крупным ядром.

Оксифильные паратироциты паращитовидных желез половозрелых крыс округлые, значительно больше по размеру, чем главные клетки. Оксифильные эндокриноциты характеризуются наличием в цитоплазме многочисленных плотно расположенных палочковидных митохондрий. Плазмолеммы соседних клеток не образуют сложных интердигитаций, имеют ровный вид. Ядро расположено центрально, оно меньше и плотнее, чем в главных паратироцитах. Митохондрии оксифильных клеток крупнее и более полиморфные, чем митохондрии главных клеток. Гликоген и липидные капли обнаруживаются почти во всех клетках, в некоторых наблюдаются единичные секретор-

ные гранулы.

Через 7 суток после введения крысам циклофосфамида морфологическая картина паращитовидных желез имеет некоторые ультрамикроскопические особенности. Основными клеточными популяциями исследуемого органа являются главные и оксифильные эндокринные паратироциты. В главных паратироцитах снижается выраженность развития органелл, включенных в полипептидный синтез и секрецию. Так, гранулярная эндоплазматическая сеть и комплекс Гольджи развиты слабо. Эндокриноциты более вытянутые по сравнению с клетками интактных животных, количество интердигитаций между ними уменьшается. Для ядер паратироцитов характерен выраженный полиморфизм. В большинстве клеток ядро неправильной формы, в нем выявлен диффузно расположенный хроматин. Хроматин агрегирован в редкие крупные скопления, либо диффузно рассеян по кариоплазме. Встречаются крупные ядра с инвагинирующей оболочкой (рис 1).

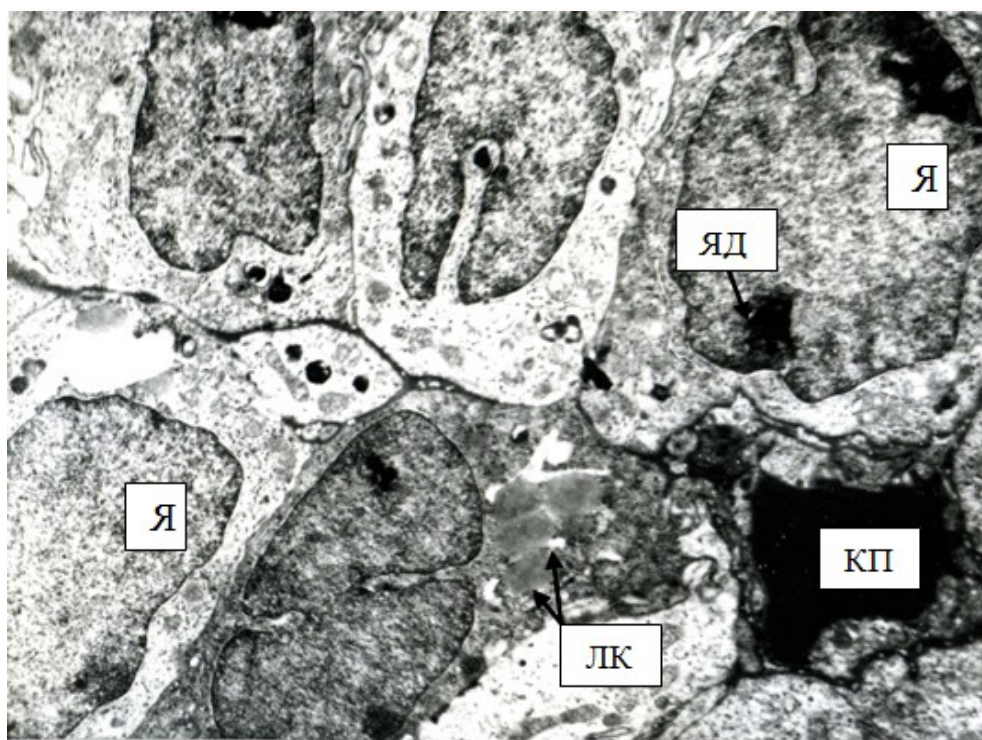


Рис. 1. Паращитовидная железа крысы репродуктивного возрастного периода после введения циклофосфамида (7 суток): Я – ядро, ЯД – ядрышко, ЛК – липидные капли, КП – кровеносный капилляр. ×8000.

В ходе электронно-микроскопического исследования выявлено, что на 7 сутки после иммуносупрессии в большинстве ядер встречаются крупные ядрышки, включения истинной природы и псевдвключения. Последние являются результатом поперечных срезов глубоких инвагинаций ядерной оболочки, содержащих цитоплазматические элементы. Секреторные грану-

лы встречаются редко. Вместо них выявлены опустошенные везикулы. В цитоплазме большинства паратироцитов крыс экспериментальной группы выявляется то большее, то меньшее количество липидных и коллоидных капель с ровными или несколько зазубренными контурами, на периферии клеток возрастает численность лизосом.

На 30 сутки после введения крысам циклофосфамида морфологическая картина паращитовидных желез на ультрамикроскопическом уровне организации отличается. Вместе с тем прослеживается тенденция к нормализации формы клеток и их ядер. В поле зрения встречаются единичные темные клетки. Отдельные паратироциты имеют электронноплотные ядра с инвагинациями. Количество и структура цистерн гранулярной эндоплазматической сети, митохондрий и комплекса Гольджи варьирует. В некоторых эндокриноцитах цистерны и трубочки эндоплазматической сети развиты хорошо и располагаются в виде параллельных рядов, в других клетках цистерн мало. Часто наблюдает-

ся соединения элементов гранулярной эндоплазматической сети с кариолеммой и перинуклеарным пространством. В отдельных клетках комплекс Гольджи развит хорошо, расположен в периферической части цитоплазмы, но в некоторых клетках диктиосомы малочисленны. Количество секреторных гранул в цитоплазме при визуальной оценке уменьшено по сравнению с таковым у контрольных животных. На периферии паратироцитов расположены липидные капли различной электронной плотности. Встречаются единичные кровеносные капилляры с меньшим диаметром, чем на препаратах контрольных животных (рис. 2).

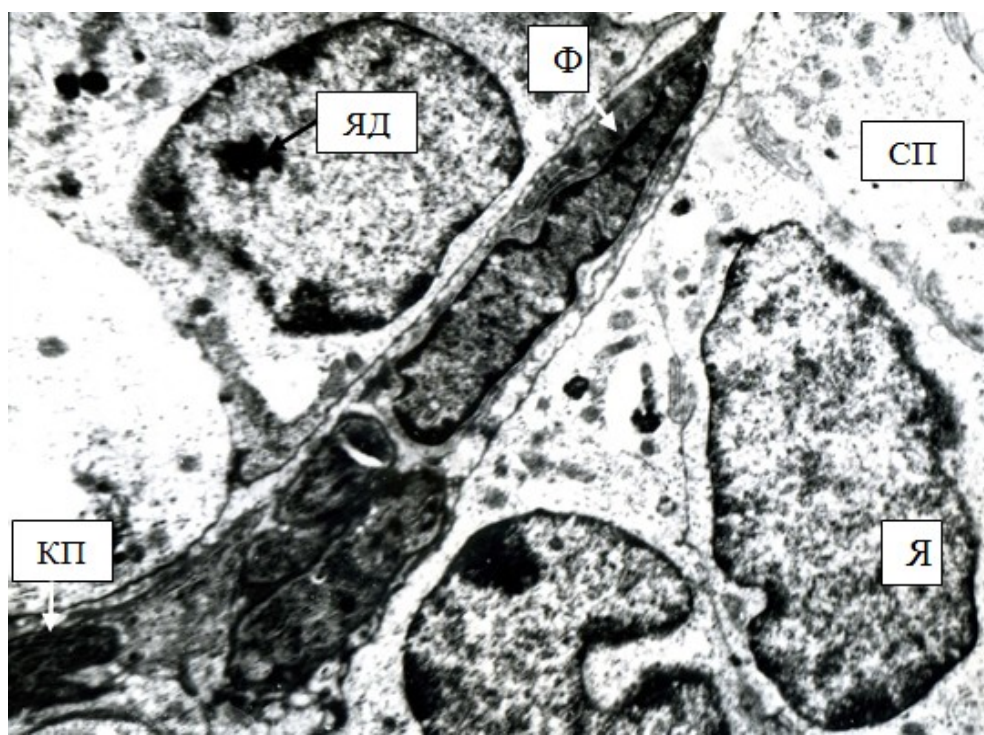


Рис. 2. Паращитовидная железа крысы на 30 сутки после введения циклофосфамида: СП – светлый паратироцит, Я – ядро, ЯД – ядрышко, КП – кровеносный капилляр, Ф – фибробласт. ×8000.

Ряд клинических и экспериментальных исследований предыдущих лет подтверждают сведения о высокой морфореактивности паращитовидных желез. Аналогичные изменения ультраструктуры паращитовидных желез крыс породы *Rattus norvegicus* были описаны S. R. Barai et al. (2009) при введении животным сублетальных доз героина, а также S. A. Goedegebuure et al. (1986) у собак, которые длительно получали диету, содержащую избыток кальция [9; 10].

Полиморфизм ядер и гипертрофию эндокринных паратироцитов выявили B. Piłat-Marcinkiewicz et al. (2007) при изучении структуры паращитовидных желез крыс-самцов линии Wistar, получавших диету, насыщенную кадмием [11]. Аналогичную тенденцию описала

в своих работах Г. Ю. Юкина (2004), которая изучала морфоструктуру щитовидной железы после введения циклофосфамида самкам белых беспородных мышей [12].

Выводы

1. Однократное введение циклофосфамида крысам-самцам половозрелого возрастного периода приводит к выраженным изменениям в ультраструктуре паращитовидных желез, что свидетельствует об их высокой морфореактивности в ответ на воздействие.

2. В ранние сроки наблюдения (7 сутки) выявляется изменение формы ядер паратироцитов, снижение численности органелл, включенных в полипептидный синтез и секрецию, увеличение численности липидных и коллоидных капель в

цитоплазме клеток.

3. На 30 сутки после введения циклофосфамида отмечается тенденция к нормализации морфоструктуры органа, однако, полного восстановления не происходит. Положительными признаками являются увеличение численности активных эндокриноцитов, нормализация фор-

мы клеток и их ядер, развитие цистерн гранулярной эндоплазматической сети и комплекса Гольджи.

Перспективы дальнейших разработок

В дальнейших публикациях планируется осветить вопросы ультраструктуры паращитовидных желез крыс после иммуностимуляции.

Литературные источники References

1. Talabér G, Jondal M, Okret S. Extra-adrenal glucocorticoid synthesis: Immune regulation and aspects on local organ homeostasis. *Molecular and Cellular Endocrinology*. 2013;380(1–2):89–98. doi: 10.1016/j.mce.2013.05.007.

2. Perrotta C, Buldorini M, Assi E, Cazzato D, De Palma C, Clementi E, Cervia D. The thyroid hormone triiodothyronine controls macrophage maturation and functions: protective role during inflammation. *The American Journal of Pathology*. 2014;184(1):230–47.

3. Arrangoiz R, Cordera F, Caba D. Parathyroid embryology, anatomy, and pathophysiology of primary hyperparathyroidism. *International Journal of Otolaryngology and Head & Neck Surgery*. 2017;6:39–58.

4. Blaine J, Chonchol M, Levi M. Renal control of calcium, phosphate, and magnesium homeostasis. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*. 2015;10:1257–72.

5. Gosink J. Parathyroid hormone, calcitonin and vitamin D testing in calcium and bone metabolic disorders. *Medlab magazine*. 2015;2:26–8.

6. Shakeel S, Mubarak M. Proliferative Lesions of Parathyroid Glands: An Update for Practicing Pathologists. *Journal of the College of Physicians and Surgeons Pakistan*. 2016;26:51–9.

7. Chen H, Senda T, Emura S, Kubo K. An update on the structure of the parathyroid gland. *The Open Anatomy Journal*. 2013;5:1–9.

8. Dar FA, Maya S, Chungath JJ, Ashok N, Patki HS and Prashanth Kumar KS. Histomorphological study of the parathyroid gland in female Kuttanad ducks (*Anas platyrhynchos domesticus*). *Veterinary World*. 2013;6(11):941–4.

9. Barai SR, Suryawanshi SA, Pandey AK. Responses of parathyroid gland, C cells, and plasma calcium and inorganic phosphate levels in rat to sub-lethal heroin administration. *Journal of Environmental Biology*. 2009;30(5):917–22.

10. Goedegebuure SA, Hazewinkel HA. Morphological findings in young dogs chronically fed a diet containing excess calcium. *Veterinary Pathology*. 1986;23(5):594–605.

11. Pilat–Marcinkiewicz B, Brzoska MM, Moniuszko–Jakoniuk J. Thyroid and parathyroid function and structure in male rats chronically exposed to cadmium. *Polish Journal of Environmental Studies*. 2008;17(1):113–120.

12. Yukina GYu, Bykov VL, Nevorotin AI. [Ultrastructural and metabolic characteristics of thyrocytes under the influence of cyclophosphamide]. *Morphology*. 2004;125(1):66–71. Russian.

Срохіна В.В., Авілова О.В. Ультрамiкроскопiчні змiни прищитоподiбних залоз щурiв пiсля iмуносупресії.

Реферат. Метою роботи було вивчення ультрамiкроскопiчної будови прищитоподiбних залоз бiлих щурiв в умовах iмуносупресії, викликанi введнням циклофосфамiду. Дослiдження проведено на 24 щурах-самцях з вихiдною масою тiла 180 ± 10 , яким вводили циклофосфамiд одноразово внутрiшньом'язово в дозуванні 200 мг/кг. Прищитоподiбнi залози дослiджували на 7 і 30 добу пiсля введення препарату. На 7 добу пiсля iмуносупресії виявлено змiну форми ядер паратироцитiв, зниження чисельностi органел, якi вiдповiдають за полiпептидний синтез, збiльшення чисельностi лiпiдних і колоїдних крапель в цитоплазмі клiтин. На 30 добу спостереження вiдзначається тенденція до нормалiзацiї морфоструктури органу.

Ключові слова: прищитоподiбна залоза, щури, ультраструктура, ендокринний паратироцит, циклофосфамiд.