

**І.С. Хріпков**

Державний заклад  
«Дніпропетровська медична  
академія МОЗ України»

Надійшла: 22.07.2019

Прийнята: 24.08.2019

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2019.3.138-142>

УДК 576.311.33: 611.441

## ДИНАМІКА УЛЬТРАСТРУКТУРНИХ ЗМІН СЕКРЕТОРНОГО АПАРАТУ ТИРОЦИТІВ В УМОВАХ ЕКСПЕРИ- МЕНТАЛЬНОГО БЛАСТОМОГЕНЕЗУ

Khripkov I.S.  Dynamics of ultrastructural changes in the secretory apparatus of thyrocytes in the conditions of an experimental blastomogenesis.

SI «Dnipropetrovsk Medical Academy of the Ministry of Health of Ukraine», Dnipro, Ukraine

**ABSTRACT. Background.** Secretion of thyroid hormones considerably decreases at development of tumoral pathology of various localization and significantly affects efficiency of treatment and the forecast of a disease. Development of a hypothyroid state can be connected with disturbance of secretory activity thyrocytes of a thyroid gland and contributes to the development of system thyroid deficiency. Definition of structural bases of development of thyroid deficiency at tumoral pathology at the subcellular level in distance interaction of a thyroid gland and a tumor will allow to define molecular and cellular mechanisms of interaction of an organism and a tumor in the a blastomogenesis. **Objective.** The purpose of the research was studying of a state and dynamics of changes of a lamellar complex of thyrocytes in the course of distance interaction with a tumor in an experiment. **Methods.** As the experimental model of tumor we have used a model of the slightly differentiated solid adenocarcinoma of Guerin. Experiment carried out on the rats - the males of the line of Vistar as far as the mass 120 - 160 g. animals were divided beside 2 groups. First group - control. To the second group - transplanted the strain of the cells of Guerin's carcinoma by hypodermic injection beside the region thighs. Animals derived based on the experiment on 2, 4 and 12 weeks. Cytotopographical and ultramicroscopic studying of dynamics of changes of dictyosomes, their distribution in cytoplasm of thyrocytes and a condition of structural components of a lamellar complex is carried out. **Results.** On the 2nd week of an experimental blastomogenesis reduction of number of cisterns of a lamellar complex to 3 - 4 is observed, cis - cisterns are considerably expanded, distances between cisterns are increased when comparing with control group, length of cisterns of trans - compartment is reduced when comparing with control group. On the 4th week of growth of a transplanted tumor the significant changes of a lamellar complex connected with fragmentation of cisterns, loss of polarity of dictyosomes and lack of vesicles and vacuoles around a lamellar complex are noted. On the 12th week of growth of a carcinoma of Guerin in thyrocytes reduction of length of cisterns of a lamellar complex, their mutually parallel and dense arrangement, lack of ampullar expansions, insignificant increase in volume of cisterns of trans - compartment dictyosome is observed. **Conclusion.** Changes of ultrastructure of a lamellar complex of Golgi of thyrocytes of a thyroid gland in the course of distance interaction with the transplanted tumor demonstrate early disturbance of processes of secretion and vesicular transport with possible development of apoptosis due to activation of a caspase system.

**Key words:** transplanted tumor, distant interaction, thyrocytes, lamellar complex.

### Citation:

Khripkov IS. [Dynamics of ultrastructural changes in the secretory apparatus of thyrocytes in the conditions of an experimental blastomogenesis]. Morphologia. 2019;13(3):138-42. Ukrainian.

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2019.3.138-142>

 Khripkov I.S. 0000-0003-0378-8414

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

© SI «Dnipropetrovsk Medical Academy of the Ministry of Health of Ukraine», «Morphologia»

### Вступ

Тиреоїдні гормони мають широкий спектр геномних і негеномних ефектів, спрямованих на клітинний енергетичний метаболізм, вазомоторну регуляцію, транспорт глюкози, еритропоз, ангиогенез, апоптоз, клітинну проліферацію, міжклітинні взаємодії і взаємодію клітина - субстрат [1-3].

Секреція тиреоїдних гормонів значно

знижується при розвитку пухлинної патології різної локалізації [4, 5] і істотно впливає на ефективність лікування і прогноз захворювання.

Розвиток гіпотиреоїдного стану у хворих може бути пов'язаний як з порушенням секреторної активності тироцитів щитоподібної залози, так і з порушенням тканинного гормонального статусу, який визначається кількістю рецепторів, їх функціональною активністю і роз-

витком пострецепторних реакцій, порушення яких при пухлинному рості сприяє розвитку системного тиреоїдного дефіциту [5].

Секреторна функція тироцитів щитоподібної залози реалізується комплексом мембранних структур клітини, провідну роль в якому виконує пластинчастий комплекс Гольджі. Пластинчастий комплекс бере участь в процесах посттрансляційної модифікації білків і їх сортуванні для пост-Гольджі компартментів клітини (ендосоми, лізосоми, плазматична мембрана), а також у процесах апоптозу, мітоза і клітинної міграції [6].

Визначення структурних основ розвитку тиреоїдного дефіциту при пухлинній патології на субклітинному рівні при дистантній взаємодії щитоподібної залози і пухлини дозволить розкрити молекулярні і клітинні механізми взаємодії організму і пухлини в процесі бластомогенезу.

**Метою** виконаного дослідження стало вивчення стану і динаміки змін пластинчатого комплексу тироцитів щитоподібної залози в процесі дистантної взаємодії з пухлиною в експерименті.

#### **Матеріали та методи**

В якості експериментальної моделі пухлини нами була використана модель малодиференційованої метастазуючої 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 штаб клітин карциноми Герена шляхом підшкірної ін'єкції в область стегна 1 мл 20% суспензії пухлинних клітин, які були отримані з 2-х тижневої пухлини. 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 +20° С впродовж 3-4 годин в 2,5% -ному розчині глутаральдегіда (виготовленому на 0,2М фосфатному буфері рН=7,4) з подальшою постфіксацією впродовж 1 години в 1%-ному забуференому (рН=7,4) розчині тетроксиду осмію («SPI», США), обезводненням в спиртах

зростаючої концентрації і пропиленоксиді і виготовленням епоксидних блоків з використанням епон - аралдиту. Ультратонкі зрізи готували на ультрамікротомі УМТП-6М («SELMІ», Україна) і розміщували на опорних сітках (Mesh Regular Grid 200). Подвійне контрастування проводили по методу 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 [7].

Статистичну обробку морфометричних параметрів проводили за допомогою програми Excel [8].

#### **Результати та їх обговорення**

При аналізі ультраструктурних змін оцінювали цитотопографію диктіосом, їх розподіл в цитоплазмі тироцитів і стан структурних компонентів пластинчастого комплексу.

Пластинчастий комплекс Гольджі побудований з плоских мембранних цистерн, які зібрані в диктіосомі. Кожна цистерна диктіосомі має cis - і trans - поверхні. Диктіосомі розташовуються у вигляді півсфери, яка основою звернена до ядра. Мембрани центральної частини цистерн зближені, а периферичні частини - формують ампульні розширення непостійного розміру, які беруть участь в утворенні транспортних везикул.

В пластинчастому комплексі розрізняють п'ять функціональних компартментів [6]:

1. Проміжні везикуло - тубулярні структури;
2. Cis - компартмент;
3. Медіальний компартмент;
4. Trans - компартмент;
5. Тубулярна сітка Гольджі.

Проміжні везикуло-тубулярні структури спеціалізуються на антероградному коамерному транспорті синтезованих білків, мембранних глікопротеїнів і лізосомальних ферментів з термінальних цистерн гранулярної ендоплазматичної сітки до cis - цистерн диктіосомі за допомогою облямованих везикул COP1.

Cis - і медіальний компартменти беруть участь в антероградному і ретроградному транспорті між ранніми і пізніми цистернами пластинчастого комплексу. Cis - компартмент спеціалізується на фосфорилуванні маннози з утворенням маннозо - 6 - фосфату як сигнального шляху для формування ферментів лізосом. У медіальному компартменті відбувається відщеплення маннози і глікозилювання білково - ліпідних мембранних рафтів.

Trans - компартмент забезпечує сульфатування і фосфорилування амінокислот, перенесення лізосомальних ферментів в ендосоми за допомогою клатринових вакуолей, бере участь в регульованій секреції і конститутивній секреції



білків плазмолемі.

Тубулярна сітка Гольджі приймає участь у сортировці білкових молекул.

При електронномікроскопічному дослідженні тироцитів тварин контрольної групи виявлено, що пластинчастий комплекс розташований у вигляді півсфери в апікальній частині клітин і складається з 4 - 5 взаємопаралельних цистерн з ампулярними розширеннями на кінцях.

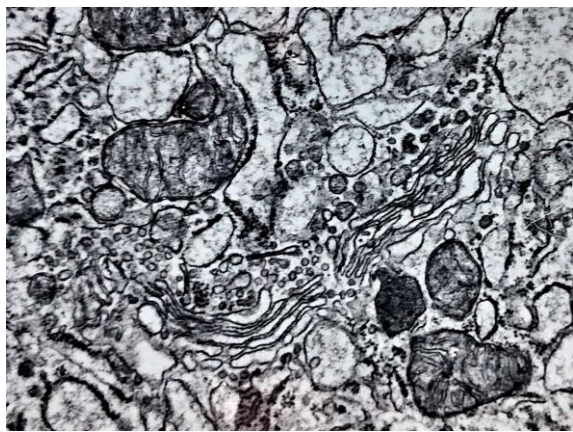


Рис 1. Пластинчастий комплекс тироцитів щурів контрольної групи. Електроннограма.  $\times 19000$ .

На 2-му тижні експериментального бластомогенезу спостерігається зменшення кількості цистерн пластинчастого комплексу до 3 - 4, cis - цистерни значно розширені, відстані між цистернами збільшені при порівнянні з контрольною групою, довжина цистерн trans - компартмента зменшена при порівнянні з контрольною групою.

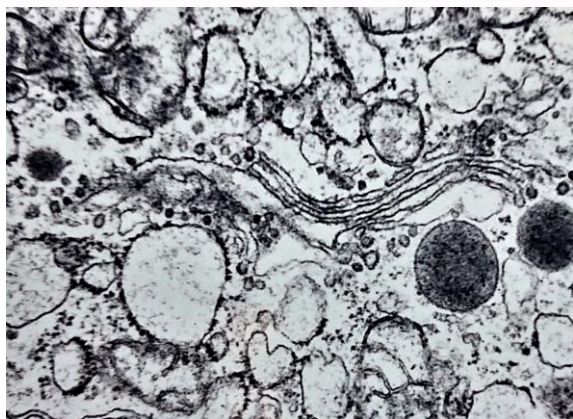


Рис 2. Розширення цистерн cis-компартменту пластинчастого комплексу тироцитів на 2-му тижні росту трансплантованої пухлини. Електроннограма.  $\times 23000$ .

На 4-му тижні росту трансплантованої пухлини відзначаються істотні зміни пластинчастого комплексу, пов'язані з фрагментацією цистерн, втратою полярності диктіосом і відсутністю везикул і вакуолей навколо пластинчастого комплексу.

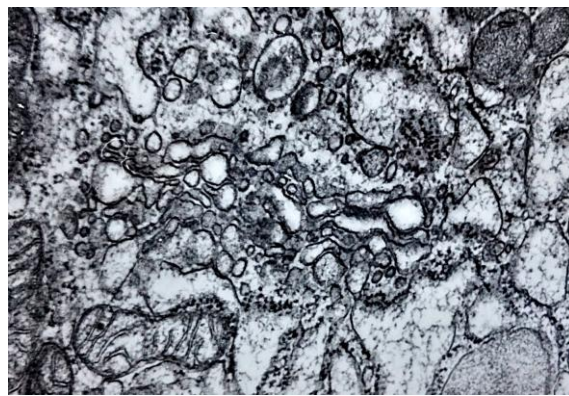


Рис 3. Фрагментація цистерн пластинчастого комплексу тироцитів на 4-му тижні росту трансплантованої пухлини. Електроннограма.  $\times 23000$ .

На 12-му тижні росту карциноми Герена в тироцитах спостерігається зменшення довжини цистерн пластинчастого комплексу, їх взаємопаралельне і щільне розташування, відсутність ампулярних розширень, незначне збільшення об'єму цистерн trans - компартмента диктіосом.

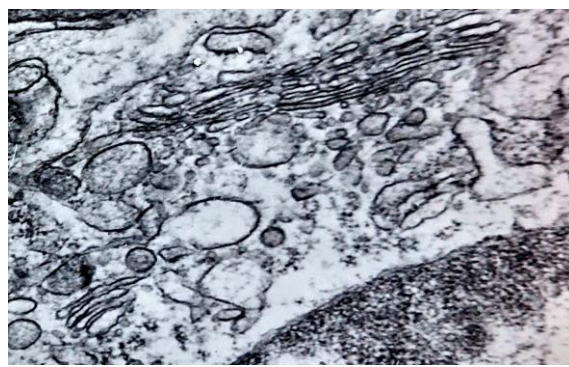


Рис 4. Зменшення довжини та відсутність ампулярних розширень пластинчастого комплексу на 12-му тижні росту трансплантованої пухлини. Електроннограма.  $\times 22500$ .

При аналізі змін ультраструктури пластинчастого комплексу Гольджі тироцитів тварин з трансплантованою карциномою Герена слід зазначити, що на 2-му тижні росту пухлини в тироцитах спостерігається уповільнення антероградного транспорту між цистернами комплексу Гольджі, що супроводжується порушенням маннозо - 6 - фосфатного шляху формування лізосом і утворення білково - ліпідних рецепторно - транспортних мембранних комплексів.

На 4-му тижні бластомогенезу спостерігається тотальне ушкодження ультраструктури пластинчастого комплексу тироцитів, яке може супроводжуватися порушенням тубуло - везикулярного внутрішньоклітинного транспорту і активацією каспазного механізму апопто-

зу [9].

На 12-му тижні розвиваються атрофічні зміни пластинчастого комплексу, які можуть супроводжуватися порушенням посттрансляційної модифікації і сортування мембранних, лізосомальних і секреторних білків.

#### **Висновки**

Дистантна дія пухлини на секреторний апарат тироцитів щитоподібної залози проявляється в зміні ультраструктури пластинчастого комплексу.

Ультраструктурні зміни пластинчастого комплексу Гольджі проявляються в зменшенні кількості цистерн, порушенні їх взаємного розташування і значному збільшенні об'єму цистерн cis -компартамента на 2-му тижні бластомогенезу. На 4-му тижні відзначається фрагментація цистерн комплексу Гольджі. На 12-му тижні пухлинного росту в тироцитах формуються атрофічні зміни пластинчастого комплексу з по-

рушенням формування структур інтеграції ранніх і пізніх цистерн диктіосом.

Зміни ультраструктури пластинчастого комплексу Гольджі тироцитів щитоподібної залози в процесі дистантної взаємодії з трансплантованою пухлиною свідчать про раннє порушення процесів секреції і везикулярного транспорту з можливим розвитком апоптозу за рахунок активації каспазної системи.

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

#### **Інформація про конфлікт інтересів**

Потенційних або явних конфліктів інтересів, що пов'язані з цим рукописом, на момент публікації не існує та не передбачається.

### **Літературні джерела References**

1. Davis FB, Tang HY, Shih A. Acting via a cell surface receptor, thyroid hormone is a growth factor for glioma cells. *Cancer Res.* 2006;66(14):7270-7275.
2. Davis FB, Mousa SA, O'Connor L. Proangiogenic action of thyroid hormone is fibroblast growth factor dependent and is initiated at the cell surface. *Circ. Res.* 2004;94(11):1500-1506.
3. Davis PJ, Leonard JL, Davis FB. Mechanisms of nongenomic actions of thyroid hormone. *Frontiers in Neuroendocrinology.* 2008;29:211-18.
4. Abduvaliyev AA, Gildiyeva MS, Saatov TS. [Tiroxinovaja regulyatsia proliferatsii estrogen- i progesteron otricatelnyh kletok raka molochnoi gelezy]. *Ros. Oncol. Jurnal.* 2006;2:15-18. Russian.
5. Kit OI, Kozlova MB, Frantsiyants EM. [Disturbance of the status thyroid and glucocorticoid hormones at patients with a single and primary and

multiple colon cancer]. *Megdun. jurnal eksperimentalnogo obrazovanija.* 2013;11:30-33. Russian.

6. Pfeffer SR. How the Golgi works: a cisternal progenitor model. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.* 2010;107(46):19614-19618

7. Kuo J, author: *Electron microscopy: methods and protocols.* New Jersey: Humana Press. Inc.; 2007. 608 p.

8. Lapach SN, Chubenko AV, Babich PN. [Statistical methods in medical and biological research using Excel]. Kyiv: Morion; 2000. 320 p. Russian.

9. Mukherjee S., Chiu R., Leung S-M. Fragmentation of the Golgi Apparatus: An Early Apoptotic Event Independent of the Cytoskeleton. *Traffic.* 2007;8:369-378.

**Хріпков І.С. Динаміка ультраструктурних змін секреторного апарату тироцитів в умовах експериментального бластомогенезу.**

**РЕФЕРАТ. Вступ.** Визначення структурних основ розвитку тиреоїдного дефіциту при пухлинній патології на субклітинному рівні при дистантній взаємодії щитоподібної залози і пухлини дозволить визначити молекулярні і клітинні механізми взаємодії організму і пухлини в процесі бластомогенезу. **Метою** дослідження стало вивчення стану і динаміки змін пластинчастого комплексу тироцитів щитоподібної залози в процесі дистантної взаємодії з пухлиною в експерименті. **Методи.** В якості експериментальної моделі пухлини нами була використана модель малодиференційованої неметастазуючої солідної аденокарциноми Герена. Експеримент проводили на щурах - самцях лінії Вістар, які були розділені на дві групи. Перша група - контрольна. Другій групі - трансплантували штамп клітин карциноми Герена шляхом підшкірної ін'єкції в область стегна. Тварин виводили з експерименту на 2-му, 4-му і 12-му тижні. Проведене цитопографічне і ультрамикроскопічне вивчення динаміки змін диктіосом, їх розподіл в цитоплазмі тироцитів і стан структурних компонентів пластинчастого комплексу. **Результати.** На 2-му тижні експериментального бластомогенезу спостерігається зменшення кількості цистерн пластинчастого комплексу до 3 - 4, cis - цистерни значно розширені, відстані між цис-

тернами збільшені при порівнянні з контрольною групою, довжина цистерн trans - компартмента зменшена при порівнянні з контрольною групою. На 4-му тижні росту трансплантованої пухлини відзначаються істотні зміни пластинчастого комплексу, пов'язані з фрагментацією цистерн, втратою полярності диктіосом і відсутністю везикул і вакуолей навколо пластинчастого комплексу. На 12-му тижні росту карциноми Герена в тироцитах спостерігається зменшення довжини цистерн пластинчастого комплексу, їх взаємопаралельне і щільне розташування, відсутність ампулярних розширень, незначне збільшення об'єму цистерн trans - компартмента диктіосом. **Підсумок.** Зміни ультраструктури пластинчастого комплексу Гольджи тироцитів щитоподібної залози в процесі дистантної взаємодії з трансплантованою пухлиною свідчать про раннє порушення процесів секреції і везикулярного транспорту з можливим розвитком апоптозу за рахунок активації каспазної системи.

**Ключові слова:** трансплантована пухлина, дистантна взаємодія, тироцит, пластинчастий комплекс.

**Хрипков И.С. Динамика ультраструктурных изменений секреторного аппарата тироцитов в условиях экспериментального бластомогенеза.**

**РЕФЕРАТ. Введение.** Определение структурных основ развития тиреоидного дефицита при опухолевой патологии на субклеточном уровне при дистантном взаимодействии щитовидной железы и опухоли позволит определить молекулярные и клеточные механизмы взаимодействия организма и опухоли в процессе бластомогенеза. **Целью** настоящего исследования явилось изучение состояния и динамики изменений пластинчатого комплекса тироцитов щитовидной железы в процессе дистантного взаимодействия с опухолью в эксперименте. **Методы.** В качестве экспериментальной модели опухоли нами была использована модель малодифференцированной неметастазирующей солидной аденокарциномы Герена. Эксперимент проводили на крысах – самцах линии Вистар, которые были разделены на две группы. Первая группа – контрольная. Второй группе - трансплантировали штамм клеток карциномы Герена путем подкожной инъекции в область бедра. Животных выводили из эксперимента на 2-й, 4-й и 12-й неделе. Проведено цитотопографическое и ультрамикроскопическое изучение динамики изменений диктиосом, их распределение в цитоплазме тироцитов и состояние структурных компонентов пластинчатого комплекса. **Результаты.** На 2-й неделе экспериментального бластомогенеза наблюдается уменьшение количества цистерн пластинчатого комплекса до 3 – 4, cis – цистерны значительно расширены, расстояния между цистернами увеличены при сравнении с контрольной группой, длина цистерн trans – компартмента уменьшена при сравнении с контрольной группой. На 4-й неделе роста трансплантированной опухоли отмечаются существенные изменения пластинчатого комплекса, связанные с фрагментацией цистерн, потерей полярности диктиосом и отсутствием везикул и вакуолей вокруг пластинчатого комплекса. На 12-й неделе роста карциномы Герена в тироцитах наблюдается уменьшение длины цистерн пластинчатого комплекса, их взаимопараллельное и плотное расположение, отсутствие ампулярных расширений, незначительное увеличение объема цистерн trans – компартмента диктиосомы. **Заключения.** Изменения ультраструктуры пластинчатого комплекса Гольджи тироцитов щитовидной железы в процессе дистантного взаимодействия с трансплантируемой опухолью свидетельствуют о раннем нарушении процессов секреции и везикулярного транспорта с возможным развитием апоптоза за счет активации каспазной системы.

**Ключевые слова:** трансплантированная опухоль, дистантное взаимодействие, тироцит, пластинчатый комплекс.