

ОСОБЕННОСТИ Фолликулогенеза в щитовидной железе крыс в условиях влияния солей тяжелых металлов

А.М. Романюк¹, Р.А. Москаленко¹, А.В. Логвин²

¹Сумский государственный университет, медицинский институт, кафедра патоморфологии, ул. Привокзальная, 31, г. Сумы, 40022.

²Сумский государственный университет, кафедра процессов и оборудования химических и нефтегазовых производств, ул. Римского-Корсакова, 2, г. Сумы, 40007.

Резюме. Целью настоящей работы было исследование механизма фолликулогенеза в щитовидной железе в условиях влияния на организм комбинации солей тяжелых металлов. Исследование было проведено на 24 белых лабораторных крысах. Путем математического моделирования было установлено, что в стенке фолликула эллипсоидной формы большее напряжение возникает по продольному разрезу эллипса, а в поперечном разрезе напряжение уменьшается. Обращается внимание на существенную роль внутрифолликулярного коллоидного давления в процессах фолликулогенеза. В работе делается предположение о том, что разница между периферическим и центральным фолликулогенезом возникает вследствие разных значений внутрифолликулярного давления, что в свою очередь является производным от разной функциональной активности фолликулярного эпителия.

Ключевые слова: щитовидная железа, фолликулогенез, коллоид, напряжение, внутрифолликулярное давление, математическое моделирование.

Современный этап развития морфологии характеризуется повышением интереса к функциональной составляющей тканей, органов и их систем, поэтому все большее признание получает раздел динамической морфологии. Повышенное внимание уделяется исследованиям динамической морфологии эндокринных желез, в том числе и морфофункциональным показателям щитовидной железы (ЩЖ) [8]. Это связано с особенностью морфологических изменений на фоне быстрых изменений окружающей среды, наличием многих спорных вопросов относительно структурно-функциональной адаптации ЩЖ в условиях влияния различных экзо- и эндогенных факторов.

ЩЖ филогенетически является наиболее древней эндокринной железой и у всех представителей позвоночных имеет фолликулярное строение [1]. Относительно способов образования новых фолликулов в ткани ЩЖ до этого времени ведутся дискуссии.

Раньше считалось, что так называемые «базальные тиреоциты» размножаются в стенке фолликула и дают начало эпителиальной почке, которая оттесняет базальную мембрану наружу и выступает з-за края фолликула. Такая

почка проникает в межфолликулярное пространство, постепенно отшнуровывается от материнского фолликула и превращается в интерфолликулярный островок. Пролиферация такого типа носила название экстрафолликулярной [1]. Однако в последнее время большинство исследователей отрицают возможность пролиферации «базальных» тиреоцитов. Наиболее вероятным направлением роста есть рост в сторону наименьшего сопротивления окружающих тканей – во внутрь просвета фолликула [7]. Это подтверждает невозможность разрушения базальной мембраны пролиферирующими тиреоцитами в нормальных условиях. К тому же самостоятельное существование интерфолликулярных островков поставлено под сомнение серией научных работ [7, 8]. При изучении серийных гистологических и электронномикроскопических срезов, пластической реконструкцией фолликулов установлено, что преимущественное большинство интерфолликулярных островков представляют собой тангенциальные срезы фолликулов или микрофолликулов.

Согласно современным представлениям, преимущественное образование фолликулов в постнатальном периоде развития организма происходит путем деления пресуществующих «материнских» фолликулов на несколько мелких. В центре и на периферии тиреоидной микродольки фолликулогенез имеет свои особенности [11]. Существуют три типа образования фолликулов из пресуществующего материнского: 1) из солидных гнезд (solid nest), 2) почечковый (budding type), 3) путем деления просвета фолликула (lumen-dividing type) [11].

При преимущественном почечковом типе фолликулогенеза сначала в полость фолликула проникает складка стенки фолликула или так называемая «эпителиальная почка». Также часто наблюдается разделение эллипсоидного фолликула эпителиальными тяжами на несколько мелких уплощенных фолликулов, которые также делятся на более мелкие фолликулы (lumen-dividing type). В больших периферических фолликулах несколько небольших эпителиальных тяжей врастают в полость фолликула под углами друг к другу, что приводит к обособлению мелких фолликулов. Иногда наблюдаются

фолликулы, эпителиальная стенка которых состоит из многочисленных очень мелких фолликулов. Механические аспекты вышеперечисленных типов фолликулогенеза и участие в нем коллоида ЩЖ раньше детально не изучались.

Проблема влияния давления коллоида на фолликулогенез в ЩЖ мало изучена в мировой научной литературе. Факт, что в фолликулах коллоид находится под давлением, был доказан С. Garbi et al. в 1982 году путем пункции фолликула иглой – их просвет сдавливался и клетки становились кубическими [10]. Также был установлен факт отсутствия полярности (базальной дифференцировки) в культуре клеток тироцитов, которые не формируют фолликулов [9, 11]. Исследованиями последних лет установлено, что в фолликулах только после появления коллоида начинается активная экспрессия тиреопероксидазы (ТПО), натрий-иодного симпортера (NIS) .

Целью исследования является исследование механизма фолликулогенеза в щитовидной железе в условиях влияния на организм комбинации солей тяжелых металлов.

Материалы и методы. Исследование было проведено на 24 белых крысах-самцах репродуктивного возраста (5-6 месяцев от рождения, с выходной массой 200-250 г). Для выведения морфофункциональной системы ЩЖ из состояния равновесия крысы получали комбинацию солей тяжелых металлов (СТМ), которая моделировала влияние микроэлементоза, характерного для северных районов Сумской области (повышенное количество цинка, меди, железа, марганца, свинца, хрома). По результатам предварительного исследования указанное сочетание СТМ имеет заметное струмогенное и тиреостатическое действие, что приводит к увеличению размеров и, таким образом, повышению интралюминального давления в фолликулах ЩЖ [4]. Повышение интралюминального давления коллоиду позволяет исследовать его влияние на фолликулогенез. Состояние гипофункции способствует ретенции коллоида в просвете фолликула и повышению интралюминального давления.

Первую группу составляли контрольные животные, которые получали дистиллированную воду. Животные второй группы получали питьевую воду с комбинацией СТМ: цинка ($ZnSO_4 \times 7H_2O$) – 5 мг/л, меди ($CuSO_4 \times 5H_2O$) – 1

мг/л, железа (FeSO_4) - 10 мг/л, марганца ($\text{MnSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$) - 0,1 мг/л, свинца ($\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$) – 0,1 мг/л, хрома ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$) – 0,1 мг/л. Для исследования динамики морфологических изменений животных выводили из эксперимента на 30 и 60 сутки путем декапитации под эфирным наркозом.

Гистологические срезы окрашивались гематоксилин-эозином, шиф-иодной кислотой. Микрофотографии получали с помощью цифровой системы вывода изображения «SEO Scan ICX 285 АК-F IEE-1394» (Украина). С помощью компьютерной морфометрической программы «SEO Image Lab 2,0» проводился анализ изображения микропрепарата, определялись средние значения морфометрических показателей: высота тироцитов (толщина стенки фолликула), большой диаметр фолликулов, оптическая плотность коллоида фолликулов.

С помощью программы «Cosmos Works» было проведено моделирование влияния интралюминального давления на стенку фолликула.

Для определения значения напряжения в стенке фолликула применен математический алгоритм расчета, начальные основы которого были взяты из теории тонкостенных оболочек [3, 6].

Напряжение в сферической оболочке, которая находится под влиянием внутреннего давления P , определяется за формулой:

$$\sigma = \frac{PR}{2h}, \quad (1)$$

где P – давление в фолликуле, Па; R – радиус фолликула, м; h – толщина стенки фолликула, м.

Для сферического сегмента при однородной деформации имеет место выражение:

$$2\pi R H h = 2\pi R_0 H_0 h_0 \quad (2)$$

где H – высота шарового сегмента, м;

$$\sigma = \frac{PR^2 H}{2R_0 H_0 h_0}, \quad (3)$$

де $H=kR$, $H_0=kR$, где k – постоянная.

При двохосном растяжении ($\varepsilon_1=\varepsilon_2=\varepsilon$) материал выдерживает касательное напряжение:

$$\sigma = \frac{E\varepsilon}{1-\mu}, \quad (4)$$

где ε - относительное удлинение материала; E – модуль упругости материала, Па; μ - коэф. Пуассона.

При этом:

$$\varepsilon=R/R_0-1, \quad (5)$$

Поэтому формулу можно переписать в виде:

$$\sigma = \frac{ER - R_0}{1 - \mu R_0} \quad (6)$$

Все это дает возможность получить формулу зависимости P и R :

$$P = \frac{2ER_0h_0}{1-\mu} \left(\frac{1}{R^2} - \frac{R_0}{R^3} \right) \quad (7)$$

При исследовании функции $P(R)$ на максимум получаем формулы для определения критических параметров:

$$R_{cr} = \frac{3R_0}{2}, P_{cr} = \frac{8Eh_0}{27(1-\mu R_0)} \quad (8)$$

Полученные данные обрабатывали статистически на персональном компьютере с использованием пакета прикладных программ. Достоверность расхождения экспериментальных и контрольных данных оценивали с использованием критерия Стьюдента, достаточной считали вероятность ошибки меньше 5% ($p<0,05$).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Основываясь на теории тонкостенных оболочек и результатах морфометрического исследования ЩЖ животных контрольной и подопытной групп была построена математическая модель для определения напряжения в стенке фолликула.

Перифолликулярные гемакапилляры формируют разветвленную структуру, тесно оплетая фолликулы, таким образом имея большое значение для механической крепости паренхимы ЩЖ. Однослойная капиллярная сетка

состоит из анастомозирующих между собой кровеносных микрососудов. Диаметр капилляров равномерный. Каждая капиллярная петля контактирует с 4-5 соседними петлями и вокруг каждого фолликула с каждой стороны находится 5-6 капилляров [5]. Поэтому в дальнейших расчетах мы использовали коэффициент Пуассона, характерный для сосудов.

При исследовании максимального значения напряжения в стенке фолликула контрольной группы крыс, при котором может произойти разрыв, было установлено, что относительное значение показателя на 30 день наблюдения составляло 0,051546 МПа, а после 60 дней - 0,047705 МПа. В сроке 30 дней влияния комбинации СТМ значение критического напряжения в стенке фолликула уменьшалось на 24,37%, через 60 дней эксперимента – на 25,65%.

Результаты эксперимента показали, что при увеличении размеров фолликула также идет увеличение напряжения в их стенке, но после достижения критического значения происходит его постепенное снижение. Можно допустить, что для предупреждения разрыва оболочки фолликула включаются физиологические или компенсаторно-приспособительные механизмы.

Для моделирования влияния внутреннего давления на стенку фолликула были выбраны упрощения: фолликул имеет правильную эллипсоидную форму и гидростатическое давление равномерно влияет на всю поверхность фолликула. Модельным материалом для стенки оболочки выступал полиэтилен, так как этот материал наиболее близок по свойствам до исследуемой биологической ткани. Для моделирования было избрано давление $P=1$ атм.

Путем компьютерного моделирования напряженно-деформированного состояния тонкостенной оболочки фолликула ЩЖ с помощью программы "Cosmos Works" было установлено, что в фолликуле эллипсоидной формы напряжение в стенке фолликула распределяется следующим образом: большие напряжения возникают на продольном сечении эллипса – до $0,4 \text{ Н/м}^2$, а в поперечном сечении – до $0,3 \text{ Н/м}^2$.

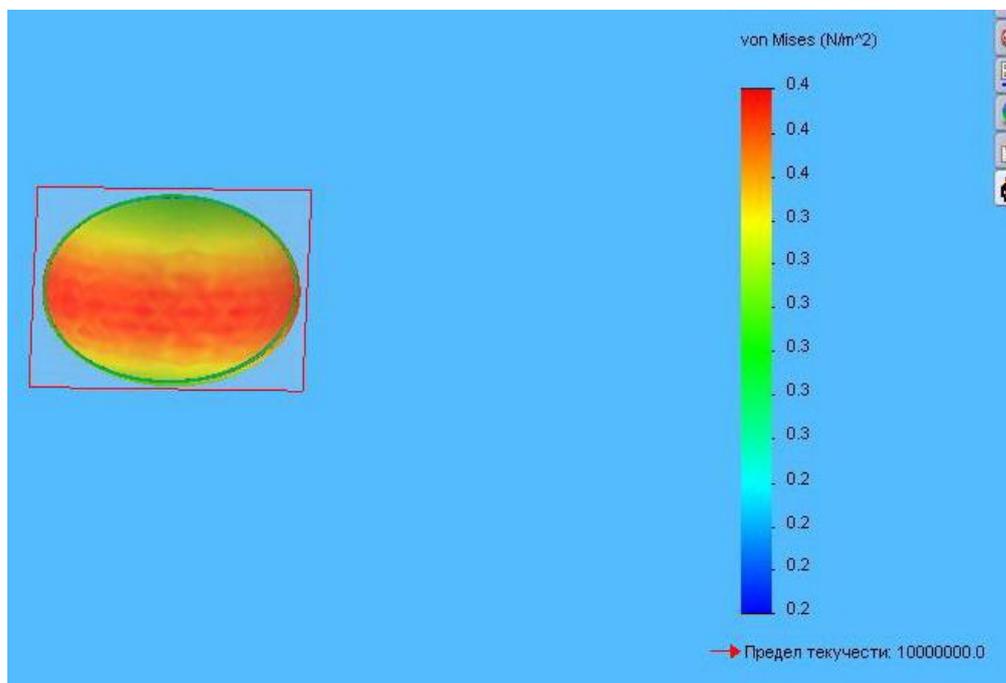


Рис. 1. Этюра распределения напряжений в эллипсоидной оболочке. На рисунке показан поперечный разрез оболочки, красным цветом показано, что большие значения напряжения возникают в продольном разрезе эллипса, а в поперечном разрезе напряжение уменьшается.

В результате влияния комбинации СТМ на фолликулярный аппарат в ЩЖ развивается гиподисфункциональное состояние, которое проявляется накоплением коллоида и изменением его тинкториальных и физико-химических свойств, уменьшением высоты фолликулярного эпителия, увеличением диаметра фолликулов, что также отображает повышение напряжения в стенке фолликула.

Участки коллоидного массива с большей оптической плотностью соответственно имеют большую физико-химическую плотность и вязкость, участки с меньшей оптической плотностью – меньшую [2]. Исследование коллоида с помощью морфометрической программы «SEO Image Lab 2,0» в режиме автоматического выделения подтвердило наличие участков с различной оптической плотностью, что может свидетельствовать о неравномерности распределения плотности коллоида. Неравномерность концентрации коллоида хорошо заметна невооруженным глазом в микропрепаратах, окрашенных с помощью PAS-реакции. При ретенции коллоида в полости фолликула увеличивается его конденсированность, насыщенность углеводным компонентом. PAS – реактив окрашивает концентрированный коллоид в багряно-розовый цвет. Неравномерность распределения давления внутри фолликула может быть существенным фактором в ходе деления фолликулов.

Опираясь на положение, согласно которого складки фолликула и эпителиальные почки или тяжи погружаются в просвет фолликула в направлении наименьшего сопротивления, становится очевидным активное участие внутрифолликулярного давления в процессах фолликулогенеза. В работе по исследованию влияния длительной гиперкальциемии на ЩЖ у центральных участках железы описывалась фрагментация фолликулов растущими тяжами соединительной ткани как векторами сил [7]. Мы считаем, что направление деления и фрагментации фолликулов определяют разные градиенты давления внутри фолликулов. Основываясь на результатах нашего исследования, можно говорить о значительной роли механических факторов и физико-химического состояния коллоида в процессах центрального и периферического фолликулогенеза. Можно допустить прямую связь между функциональной активностью фолликулярного эпителия и преобладающим типом фолликулогенеза. Известно, что в периферических участках долек ЩЖ морфофункциональная активность тироцитов ниже и внутрифолликулярное давление, соответственно, больше, чем в центральных участках, что и обуславливает разницу в направлениях векторов погружения складок фолликулярного эпителия или соединительнотканых тяжей. Таким образом, в периферических участках из-за большего внутрифолликулярного давления и сопротивляемости коллоида фрагментация происходит под более острыми углами и это приводит к отделению более мелких фолликулов, даже до образования микрофолликулов в стенке материнского фолликула. В центральных участках паренхимы ЩЖ функциональная активность фолликулярного эпителия выше, коллоид более разрежен и, соответственно, фолликулы фрагментируются более равномерно, поэтому в ходе центрального фолликулогенеза образовывается 2-3 уплощенных фолликула.

ВЫВОДЫ

Таким образом, полученные результаты позволяют сделать вывод о значительной роли внутрифолликулярного коллоидного давления в процессах фолликулогенеза. Установлено, что в стенке фолликула эллипсоидной формы

большее напряжение возникает по продольному разрезу эллипса, а в поперечном разрезе напряжение уменьшается.

Анализируя результаты исследования, можно допустить, что разница между периферическим и центральным фолликулогенезом возникает вследствие разных значений внутрифолликулярного давления, что в свою очередь является производным от разной функциональной активности фолликулярного эпителия.

The peculiarities of folliculogenesis of thyroid gland under the influence of heavy metal salts

A.M. Romanyuk, R.A. Moskalenko, A.V. Logvin
Sumy state university

***Summary.** The purpose of this study was to investigate the mechanism of folliculogenesis in the thyroid gland under the influence of combinations of heavy metals salts on the organism. The study was conducted on 24 white laboratory rats. Mathematical modelling shows that in the wall of the follicle ellipsoid greater tension arises from the longitudinal section of an ellipse and a cross-sectional voltage decreases. The paper attention to the important role of intraluminal colloidal pressure in the process of folliculogenesis. The paper makes the assumption that the difference between peripheral and central folliculogenesis arises as a result of the different of intraluminal pressure, which in turn is derived from different functional activity of the follicular epithelium. Key words: thyroid gland, folliculogenesis, colloid, voltage, intraluminal pressure, mathematical modeling.*

ЛИТЕРАТУРА

1. Алешин Б.В. Гипоталамус и щитовидная железа/Б.В. Алешин, В.И.Губский. –М.: Медицина, 1983. -184 с.
2. Безденежных А.В. Методика определения степени йодирования коллоида щитовидной железы/ А.В. Безденежных, А.Г.Кочетков, Е.В. Силин// Морфология. - 2000. - Т.117, №2. –С.21.
3. Кузин А.А. Моделирование напряженно-деформированного состояния грыжи / А.А.Кузин, Р.А.Кузин, А.Г.Хахимов //Математическая биология и биоинформатика. – 2008. – Том 3, №26. - с. 79-84.
4. Романюк А.М. Морфологічні зміни щитоподібної залози статевозрілих щурів в умовах впливу солей важких металів. /Романюк А.М., Москаленко Р.А.//Світ біології і медицини. – №2, - 2008. –С.44-46.
5. Полянская Л.И. Микроциркуляторное русло щитовидной железы крысы в норме и при гипокинезии по данным сканирующей электронной микроскопии коррозионных препаратов/ Л.И.Полянская, А.А.Миронов, В.А.Миронов// Архив анатомии, гистологии и эмбриологии. -1988. –Т. 85 - №11. – С.51-56.

6. Стороженко В.Я. Розрахунок тонкостінних апаратів (теорія і практика)/ В.Я.Стороженко. – Суми. Вид-во Алан-прес. 2002. – 210 с.
7. Федченко Н.П. Некоторые проблемы структурной организации щитовидной железы/ Н.П.Федченко //Архив анатомии, гистологии и эмбриологии.-1986. –Т.90, №6. –С. 82-89.
8. Федченко Н.П. Элементы динамической морфологии некоторых органов в норме и патологии / Н.П.Федченко, В.И.Гарец, Н.Н.Федченко //Вісник проблем біології і медицини.-2006.-Вип.2.-С.25-28.
9. Follicle-like structure and polarized monolayer: role of the extracellular matrix on thyroid cell organization in primary culture / J.Mauchampa, A.Mirrionea, C.Alquierb [et al] // Biol Cell. – 1998. – Vol. 90 (5). – P.369-80.
10. Garbi C. Ultrastructure and some other properties of inverted thyroid follicles in suspension culture / C.Garbi, S.H.Wollman // Exp Cell Res. – 1982. –Vol. 138(2). – P.343–353.
11. Thyrocytes, but not C cells, actively undergo growth and folliculogenesis at the periphery of thyroid tissue fragments in three-dimensional collagen gel culture / Toda S, Aoki S, Suzuki K [et al] // Cell Tissue Res. – 2003. – Vol. 312. – P.281-289.
12. Transforming growth factor- β 1 induces a mesenchyme-like cell shape without epithelial polarization in thyrocytes and inhibits thyroid folliculogenesis in collagen gel culture / Toda S, Matsumura S, Fujitani N [et al] // Endocrinology. – 1997. - Vol. 138, №12. - P.5561-5575.

Адрес для переписки:

Украина, г.Сумы, ул.Мира, 25, индекс 40007

Москаленко Роман Андреевич, тел. +380979802731

e-mail: eriugen@ukr.net