

КИЇВСЬКИЙ УНІВЕРСИТЕТ ім. ТАРАСА ШЕВЧЕНКА

На правах рукопису

КОРНІЛОВСЬКА Ірина Миколаївна

**ДІЯ ДЕЯКИХ ЕКОЛОГІЧНИХ ЧИННИКІВ
НА ТКАНИННІ БАЗОФІЛИ
ЩИТОВИДНОЇ ЗАЛОЗИ**
(Експериментальне дослідження)

14.00.23 - гістологія, цитологія, ембріологія

А в т о р е ф е р а т
на здобуття наукового ступеня кандидата
біологічних наук

Київ - 1994

Роботу виконано в Дніпропетровській державній медичній академії

Науковий керівник: член-кореспондент УЕАН,
доктор медичних наук, професор
Л.В.Гербільський

Офіційні опоненти:

доктор медичних наук, професор
В.М.Гордієнко

Ведучий науковий співробітник, кандидат
біологічних наук
І.І.Дроздович

Провідна установа:

Український державний медичний університет
ім. академіка А.А.Богомольця

Захист дисертації відбудеться 29 грудня 1994 року на засіданні
спеціалізованої Вченої Ради Д 01.01.13 Київського університету ім.
Тараса Шевченка за адресою: 252017, м. Київ, вул. Володимирська 60

З дисертацією можна ознайомитися у бібліотеці Київського університету
ім. Тараса Шевченка

Автореферат розісланий 26.11 1994 року

Вчений секретар спеціалізованої
вченої ради,
кандидат біологічних наук

О.В.Данилова

ЛНБ України ім.В.Стефаніка



00756218 (Т)

ЛНБ ім. В. Стефаніка
АН України

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. За останні 10-15 років з'явилась тенденція до збільшення показників захворювань тиреотоксикозом, гіпотиреозом, тиреоїдами та іншими формами тиреоїдної патології, пов'язана з різким погіршенням екологічного стану, що потребує поглибленого вивчення структури, функції та регуляції щитовидної залози в умовах дії різних екологічних чинників. В останній час численні наукові праці, присвячені різним аспектам вивчення щитовидної залози, були опубліковані вченими України (Байда Л.К., 1994; Воловик М.В., 1994; Гордієнко В.М., 1994; Данилова О.В., 1994; Дроздович І.І., 1994; Карпіна Л.З., 1994; Рукавишнікова Д.К., 1994; Тронько М.Д., 1994). Разом з тим деякі аспекти дії екологічних чинників на стан щитовидної залози, зокрема на її тканинні базофіли, недостатньо вивчені. Спираючись на точку зору системної органології, щитовидна залоза це високоінтегрована система, що складається з багатьох компонентів (Гербільський Л.В., 1983). Стан щитовидної залози регулюється як зовнішніми чинниками, так і внутрішніми, у тому числі біологічно активними речовинами тканинних базофілів. Тому вивчення цієї клітинної популяції може допомогти у вирішенні актуальних проблем, пов'язаних з корекцією стану щитовидної залози.

Історія вивчення тканинних базофілів налічує понад 100 років з моменту відкриття цих клітин Ерліхом (Ehrlich P., 1873). Тканинні базофіли виявляють високу чутливість до дії різноманітних чинників як навколишнього, так і внутрішнього середовища. З точки зору екологічної гістології важливо вивчати різноманітність таких об'єктів. Класичним прикладом розподілу тканинних базофілів на різні популяції є виділення так званих "слизових" та "сполучнотканинних" базофілів (Enerback L., 1966). Підставами для виділення субпопуляції тканинних базофілів були різна чутливість до фіксаторів і спорідненість до барвників. У багатьох ссавців виявлена гетероморфність тканинних базофілів, як із різноманітною анатомічною локалізацією, так і в межах одного органа (Galli S.J., 1984; Pearce F.L., 1985; Van-Overveld F.J., 1989; Miller H.R., 1988; Bentley A.M., 1992; Montella A., 1992). Морфологічна гетерогенність тканинних базофілів яка зберігається як на світлооптичному, так і на електронномікроскопічному рівнях, корелює з відмінністю їх біохімічних характеристик (Bruijnzeel P.L., 1991), та може формуватися під впливом мікрооточення (Valent P., 1991; Gurish M.F., 1992). Слід зазначити, що нині визнаним є положення про ключову роль тканинних базофілів у регуляції локального гомеостазу (Ліндлер Д.П., 1976; Гордон Д.С., 1982). Також необхідно зазначити, що активація тканинного базофіла може

привести до запуску ланцюга реакцій, який здійснює ампліфікацію реакції відповіді (Galli S.J., 1991). Відомо, що у шитовидній залозі присутність тканинних базофілів зумовлена не тільки запалювальними або алергічними реакціями (Catini C., 1980). Ці клітини виконують також роль системобудуючих елементів тиреоїдного мікрорайону. Біологічно активні речовини, які секретують тканинні базофіли, можуть значно змінювати стан різних елементів епітеліальної та сполучної тканини (Гербільський Л.В., 1982, 1983, 1986; Vanovac K., 1992; Katayama I., 1992). Допільно звернути увагу на чутливість тканинних базофілів до різноманітних екологічних чинників як фізичного, так і хімічного походження, яка виявляється у морфологічній реакції - дегрануляції (Van-Overveld F.J., 1989; Fujimaki H., 1992, 1993). Розподіл популяції тканинних базофілів на підгрупи здійснюється за ступенем дегрануляції (Heard B.E., 1990). Тканинні базофіли шитовидної залози можуть виконувати роль "екоцентрів", тому що шитовидна залоза у багатьох випадках виявляється мішенню для чинників забруднення навколишнього середовища (Гербільський Л.В., 1992; Chnabta R.S., 1992).

У сучасній науковій літературі має місце точка зору, що розподіл на "сполучнотканинні" та "слизові" тканинні базофіли не відображає дійсності, тому що є проміжні типи клітин (Tainsh K.R., 1992). Деякі автори вважають, що необхідно аналізувати характеристики кожної популяції тканинних базофілів (Galli S.J., 1991). До цього часу гетероморфність тканинних базофілів шитовидної залози не вивчена. Не виключено, що гетероморфність тканинних базофілів має місце як необхідна ознака регулятора (Ешбі У.Р., 1959). Очевидно, тканинні базофіли шитовидної залози можуть відрізнятися за морфологічними та фізіологічними характеристиками в залежності від їх локалізації, що продемонстровано на інших органах (Montella A., 1992). Наведені дані, зумовлюють необхідність вивчення популяції тканинних базофілів шитовидної залози на підставі врахування локалізації цих клітин та реактивних змін в них при дії різноманітних чинників.

Мета роботи. Вивчит. структуру тканинних базофілів в нормі та під впливом деяких фізичних та хімічних чинників.

Завдання дослідження:

1. Дати кількісну морфологічну характеристику популяції тканинних базофілів шитовидної залози інтактних щурів.
2. Дати кількісну морфологічну характеристику популяції тканинних базофілів шитовидної залози щурів, які підлягали дії фізичних та хімічних чинників навколишнього середовища.

3. Дати кількісну морфологічну характеристику посмертних змін популяції тканинних базофілів щитовидної залози щурів.

Наукова новизна і теоретичне значення. Новизна цього дослідження полягає у тому, що на підставі врахування локалізації кожного тканинного базофілу щитовидної залози, за допомогою цитохімічних та морфометричних методів встановлені нові факти:

- вперше тканинні базофіли щитовидної залози за жалізацією, цитохімічними властивостями, та реакцією на дію деяких екологічних чинників поділені на дві субпопуляції - парафолікулярну та інтерфолікулярну;

- вперше вивчені цитохімічні та морфометричні властивості субпопуляцій тканинних базофілів щитовидної залози у інтактних щурів;

- вперше продемонстрована гетероморфність субпопуляцій тканинних базофілів щитовидної залози при реактивних змінах у відповідь на дію різних екологічних чинників.

Результати роботи вносять нові положення в теоретичні уявлення про тканинні базофіли як регулятори місцевого гомеостазу. Виявлена гетероморфність тканинних базофілів щитовидної залози. Одержані нові дані про вплив випромінювання, інталу, сумісної дії випромінювання з інталом та гербіциду атразину на стан різних субпопуляцій тканинних базофілів щитовидної залози, які також уточнюють уявлення про механізм дії зазначених чинників на морфологічну структуру щитовидної залози.

Практична цінність роботи. Дані про відмінність реактивності субпопуляцій тканинних базофілів щитовидної залози у відповідь на вплив фізичних та хімічних (у тому числі фармакологічних) чинників, що встановлені в результаті дослідження, дозволяють обґрунтувати нові підходи до корекції стану щитовидної залози. Матеріали дисертації можуть бути використані в навчальному процесі на кафедрах ендокринології, гістології та цитології, а також у лабораторіях зазначеного профілю.

Апробація роботи. Основні положення дисертаційної роботи були викладені і обговорені на: конференціях молодих вчених Дніпропетровської державної медичної академії (1993-1994); міжнародній конференції "Комп'ютерна техніка и програмное обеспечение в медицине" (Дніпропетровськ, 1993); III Європейському конгресі ендокринологів (Амстердам, 1994); XIV міжнародному конгресі анатомів (Лісабон, 1994); I національному конгресі анатомів, гістологів, ембріологів та топографоанатомів України (Івано-Франківськ, 1994).

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 14 наукових робіт, оформлено 1 рацпропозицію.

На захист виносяться такі положення:

1. Наявність гетероморфності популяції тканинних базофілів щитовидної залози у інтактних шурів.
2. Наявність гетероморфності популяції тканинних базофілів щитовидної залози у відповідь на дію випромінювання, фармакологічного препарату інталу та гербіциду атразину.
3. Наявність гетероморфності популяції тканинних базофілів щитовидної залози у помертло зміненому органі.

Структура дисертації. Дисертація викладена на 145 сторінках машинописного тексту і складається із вступу, огляду літератури, 5 розділів експериментальних досліджень, обговорення, висновків та списку літератури, який включає 120 джерел вітчизняних та зарубіжних авторів. Робота проілюстрована 20 таблицями, 47 мікрофотографіями, 17 графіками та 2 схемами.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Експерименти були проведені на 295 безпородних білих шурах (100 самців та 195 самках), масою тіла 110-150г. Тварини піддавали дії різних чинників. Було утворено 5 контрольних та 28 піддослідних груп.

Моделювання дії рентгенівського опромінення проводили на приладі РУМ 17 згідно з технічними умовами: сила току - 15 мА, напруга - 200 кВ, фільтр - 0.5 Cu, відстань шкіра-фокус 50 см, потужність дози - 33 R (-0.33 Гр). Було проведено дві серії експериментів. У першій серії застосовували дози тотального опромінення 250, 500 та 1000 рентген (R), а у другій - 50, 100, 200 та 400 R. Забивання тварин здійснювали через 3 доби після опромінення шляхом розрізу серця під ефірним наркозом.

Інтал (комерційний препарат, ЛЕК, Любляна) вводили підшкірно у дозі 1.3 мг на 100 г маси тіла на фізіологічному розчині, дворазово, на протязі 4 діб (Altounyan R.T.C., 1980). Контрольна група одержувала інгекції фізіологічного розчину. Дві групи шурів через 4 години після першої інгекції інталу були опромінені (тотально) у дозах 100 R та 400 R.

Для вивчення помертвих змін у популяції тканинних базофілів щитовидної залози було сформовано 15 експериментальних груп. Після зупинки серця в наслідок ефірного наркозу у контрольній групі шурів вилучали щитовидну залозу, а у піддослідних - через 10г, 20г, 40г, 80г, 160г, 320г, 640г та 12⁰⁰ хвилин. Починаючи з 40-ї хвилини після загибелі, тварин розподіляли на дві підгрупи які зберігали при температурі +15, +19⁰С та при +5, +9⁰С.

Гербіцид атразин (осч) у дозі 1/5 LD50, тобто 24 мг на 100 г маси тіла у вигляді суспензії на 1% розчині крохмалю вводили зондом на протязі 6 та 12 діб (Мельников М.І., 1972).

Контролем були також інтактні щури масою тіла від 100 до 200г. У всіх вищезазначених тварин ліву частку щитовидної залози негайно фіксували у 4% нейтральному формаліні, або у рідині Карнуа, або у рідині Буена. В останньому випадку інколи проводили префіксацію щитовидної залози (21мл рідини Буена, 18 мл 1% розчину трихлороцтової кислоти та 3 мл льодної оцтової кислоти). Префіксація тривала на протязі 3 години. Після цього матеріал промивали у двох змінах рідини Буена по 20 хвилині і дофіксували у рідині Буена на протязі 24 години. Матеріал обезводнювали у етилових спиртах та заливали у парапласт або парафін. Серединні зрізи товщиною 5-7 мкм монтували на стекла, скриті хромато-желатином (Lacey A.J., 1989).

Для загальної характеристики препарати щитовидної залози забарвлювали багатокольоровою методикою за Слінченком (1964). Для вияву тканинних базофілів препарати забарвлювали: толуїдиновим блакитним по Унна з контрастуванням ядер гематоксиліном, альціановим блакитним (Sigma), сафраніном-О (Serva) та альціановим блакитним/сафраніном (Eberback L., 1966; Kawabori S., 1992), та методом із застосуванням кон'югату авідин-пероксидази (Sigma) (Bergstresser P.R., 1984). Згідно класичній методиці після фіксації формаліном "слизові" тканинні базофіли втрачають здібність забарвлюватися будь якими барвниками. Після фіксації рідиною Карнуа вони забарвлюються альціановим блакитним. "Сполучнотканинні" базофіли забарвлюються сафраніном після вищезазначених методів фіксації. Юні "сполучнотканинні" базофіли можуть забарвлюватися як сафраніном так і альціановим блакитним.

Базальні мембрани епітеліомерів виявляли за допомогою кролячої антисироватки до ламініну (Sigma) у розведенні 1/200 згідно схемі непрямого виявлення антигену з використанням авідин-біотинової системи з пероксидазою як ферментною міткою (Lacey F.J., 1989). Антивидові антитіла, кон'юговані з біотіном (Sigma) використовували у розведенні 1/200. Кон'югат авідин-пероксидази (Sigma) - у розведенні 1/250. Субстратом був діамінобензидин (Serva). Як негативний контроль першого шару застосовували 1% розчин бичачого альбуміну (Serva). С-клітини щитовидної залози виявляли за допомогою антисироватки до нейронспецифічної енолази (Serva) у розведенні 1/1000 - 1/2000 (Rosai J., 1992). Для виявлення тиреоглобуліну щитовидної залози використовували антисироватку, одержану згідно до методу імунізації кролів. Як антиген застосовували розчин комерційного препарату

тиреоглобуліну бика (Sigma). Одержану антисироватку тестували імуноферментним аналізом (Нго Т., 1988).

Для кількісної оцінки стану структур щитовидної залози використовували комплекс морфометричних методик. Усі виміри робили за допомогою окулярної лінійки (Автанділов Г.Г., 1973, 1980). Загальна морфометрична характеристика щитовидної залози та популяції тканинних базофілів була проведена згідно методики, розробленої на кафедрі Гістології Дніпропетровської державної медичної академії (Гербільський Л.В., 1986). Якісний стан тканинних базофілів оцінювали за допомогою напівкількісного методу, згідно з яким в залежності від розташування секреторних гранул визначали ступінь дегрануляції тканинних базофілів. При компактному розташуванні усіх гранул клітини її дегрануляцію оцінювали як "0" ступінь. Якщо за межами клітини знаходили від 1 до 5 окремих гранул, то визначали ступінь дегрануляції як "1", а якщо таких гранул було більш ніж 5 - "2" ступінь. "3" ступінь дегрануляції надавали тканинному базофілу у тому випадку, коли дифузне розташування гранул не дозволяло визначити дійсні межі клітини. Визначали локалізацію кожного тканинного базофіла, що вивчали (Рис. 1). Якщо тканинний базофіл мав контакт з фолікулом, його локалізація визначалась як парафолікулярна (P-F).

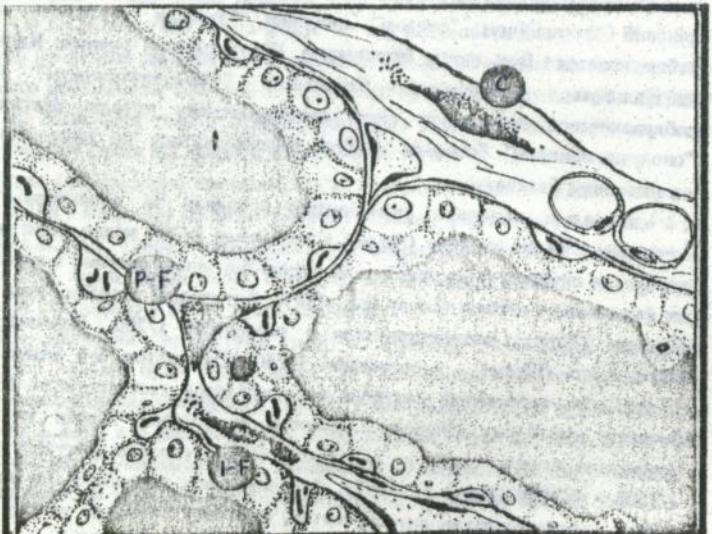


Рис. 1 Схема локалізації тканинних базофілів щитовидної залози.

Тканинні базофіли, які лежали у стромі - як інтерфолікулярні (-F), локалізовані у капсулі органу - як капсулярні (С).

Статистичну обробку даних проводили за допомогою програм для персональних комп'ютерів. Вірогідність результатів визначали за критерієм Стьюдента (t) з урахуванням рівня значимості (P).

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Проведені гістохімічні дослідження з використанням класичної методики (Enebergäck L., 1966) виявлення "сполучнотканинних" та "слизових" тканинних базофілів після різних фіксацій (рідиною Карнуа, або формаліном) показали, що всі тканинні базофіли щитовидної залози можна віднести до типу "сполучнотканинних". Так при комплексному забарвленні альціановим блакитним/сафраніном капсулярні тканинні базофіли виявились альціанпозитивними. Інтерфолікулярні тканинні базофіли забарвлювались обома барвниками, при цьому альціановий блакитний забарвлював гранули по периферії клітини. Парафолікулярні тканинні базофіли інтенсивно забарвлювались сафраніном. При виявленні "сполучнотканинних" базофілів авідин-пероксидазою головним чином забарвлювались клітини, локалізовані у стромі та капсулі щитовидної залози. Забарвлення толуїдиновим блакитним після пероксидазної реакції виявило парафолікулярні тканинні базофіли.

Використання методу префіксації, що коагулює білки стромі та збільшує гідратацію сполучної тканини і при цьому зберігає структуру паренхіми органу, показало наявність гетероморфності популяції тканинних базофілів щитовидної залози, тому що парафолікулярні тканинні базофіли зберігають контакт з базальною мембраною епітеліомерів. Ці тканинні базофіли складають 55% від загальної кількості. Інтерфолікулярні тканинні базофіли складають близько 43% від загальної кількості тканинних базофілів і знаходяться у сполучній тканині між колагеновими волокнами. Капсулярні тканинні базофіли складають 2% тканинних базофілів щитовидної залози і розташовані, головним чином, біля магістральних кровоносних судин та нервових волокон.

Застосування комплексу імуногістохімії з виявленням тканинних базофілів толуїдиновим блакитним продемонструвало, що ні самі тканинні базофіли ані їх гранули не знаходяться у межах базальної мембрани епітеліомерів, тобто у епітеліальному шарі. Контакти між тканинними базофілами та С-клітинами мають місце, але зустрічаються досить рідко. Тканинні базофіли розповсюджені у щитовидній залозі більш рівномірно ніж С-клітини. Імуногістохімічне виявлення тиреоглобуліну продемонструвало

неоднородність колоїду щитовидної залози. Насичене забарвлення спостерігалось на межі з апікальними поверхнями тироцитів, де процеси накопичення та резорбції колоїду мають інтенсивний характер. Кореляції між інтенсивністю забарвлення колоїду та наявністю парафолікулярних базофілів біля такого фолікула не виявлено. Тканинні базофіли інколи утворюють асоціації - іноді у формі ланцюжка, що складається з 5-10 клітин. Розуміючи, що такі ланцюжки не можуть розташовуватись стисло в одній площині можна зробити висовок, що їх довжина набагато більша, ніж це демонструє гістологічний препарат.

Парафолікулярні тканинні базофіли вірогідно відрізняються від капсулярних за ступенем дегрануляції (P-F - 0.24 ± 0.05 ; I-F - 0.22 ± 0.14 ; C - $1.59 \pm 0.18^*$; $t=9.33$, $*P < 0.05$) та об'єму (P-F 453.6 ± 31.1 ; I-F 372.2 ± 65.3 ; C - $604.3 \pm 83.7^*$; $t=1.94$, $*P < 0.05$; $\mu\text{км}^3$). Незважаючи на малу кількість капсулярних тканинних базофілів, інтенсивність їх дегрануляції найбільша. Відсутність різниці у ексцентриситеті тканинних базофілів свідчить про те, що цей параметр не є характерною ознакою різних субпопуляцій. Кількісна більшість парафолікулярних тканинних базофілів дозволяє висунути тезу про ключову роль цієї субпопуляції у регуляції стану щитовидної залози. Цю точку зору підтверджують дані про наявність хемотаксису і градієнта збільшення кількості тканинних базофілів по відношенню до базальної мембрани епітелію (Flynn E.A., 1991; Heard V.E., 1990).

Не зважаючи на те, що реакція загальної популяції тканинних базофілів на рентгенівське випромінювання вже досліджена (Гербільський Л.В., 1986), нами було проведено вивчення окремих субпопуляцій тканинних базофілів. Встановлено, що після дії іонізуючого випромінювання тканинні базофіли - найбільш чутливі клітинні елементи щитовидної залози. Виявлена вірогідна зміна числа тканинних базофілів на 1 мм^2 зрізу (контроль - 59.2 ± 0.38 , 250R - $61.1 \pm 0.22^*$, 500R $64.8 \pm 0.34^*$, 1000R - $51.8 \pm 0.22^*$; $*P < 0.05$). При дослідженні окремих субпопуляцій тканинних базофілів виявлено, що кількість парафолікулярних тканинних базофілів вірогідно збільшується, а кількість інтерфолікулярних - зменшується. Ступінь дегрануляції тканинних базофілів щитовидної залози вірогідно дозозалежно збільшується ($t=3.68$, $P < 0.05$). Морфометричне вивчення ступеню дегрануляції тканинних базофілів в залежності від локалізації клітин продемонструвало відмінність реагування різних за локалізацією тканинних базофілів (Рис. 2, 3). При цьому ексцентриситет тканинних базофілів не змінювався, а об'єм зберігав відмінність між різними за локалізацією тканинними базофілами у межах експериментальних груп.

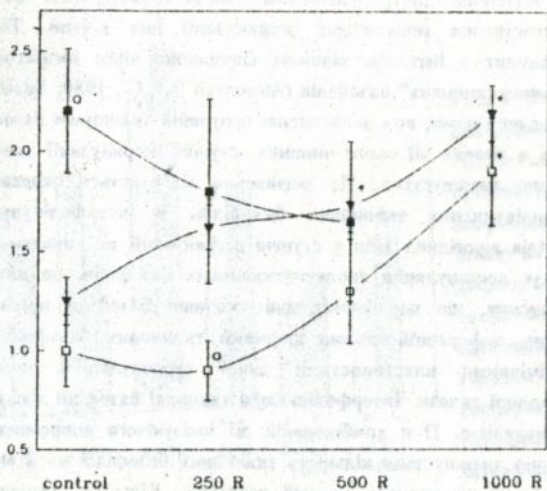
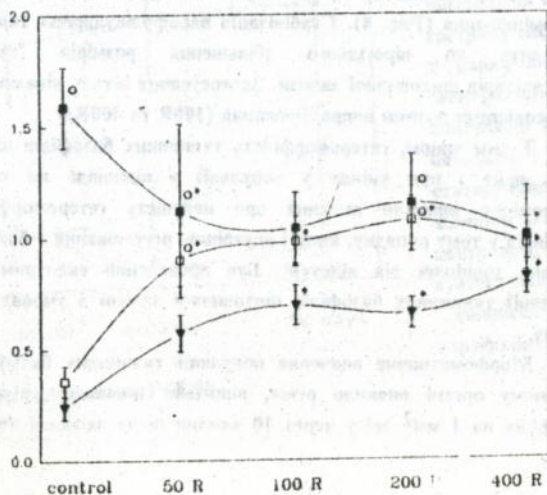


Рис. 2, 3. Вплив різних доз випромінювання на ступінь дегрануляції тканинних базофілів щитовидної залози у гострому експерименті. \blacktriangledown - парафолікулярні, \circ - інтерфолікулярні, \blacksquare - капсулярні тканинні базофіли. * - статистично вірогідна відмінність порівняно з контролем; o - статистично вірогідна відмінність порівняно з парафолікулярними тканинними базофілами; $P < 0.05$.



Класичним інструментом вивчення гетероморфності тканинних базофілів є застосування модуляторів дегрануляції цих клітин. Тому ми провели експеримент з інталом, відомим фармакологічним інгібітором дегрануляції "сполучнотканинних" базофілів (Altounyan R.E.C., 1980; Scott R.B., 1993). Як встановлено нами, при дослідженні популяції тканинних базофілів шитовидної залози в умовах дії цього чинника, ступінь дегрануляції тканинних базофілів вірогідно зменшується. Це зменшення відбувається переважно за рахунок парафолікулярних тканинних базофілів. В інтерфолікулярних тканинних базофілів вірогідних змін у ступені дегрануляції не виявлено. Оскільки інтал зменшує дегрануляцію сполучнотканинних базофілів, це дозволяє висловити припущення, що парафолікулярні тканинні базофіли шитовидної залози є зрілими, диференційованими формами тканинних базофілів, що корелює з цитохімічними властивостями даної субпопуляції тканинних базофілів шитовидної залози. Інтерфолікулярні тканинні базофіли можуть бути незрілою субпопуляцією. При комбінованій дії іонізуючого випромінювання та інталу вірогідно зменшується кількість тканинних базофілів на 1 мм^2 зрізу, тоді як один інтал не впливає на цей параметр. Кількість тканинних базофілів з різною локалізацією при дії інталу змінюється подібно до дії іонізуючого випромінювання: кількість парафолікулярних тканинних базофілів збільшується, а кількість інтерфолікулярних - зменшується. Ступінь дегрануляції тканинних базофілів при комбінованій дії інталу та випромінювання зменшується на 41% ($t=3.7$, $P<0.05$). Парафолікулярні тканинні базофіли вірогідно реагують як на дію інталу, так і на спільну дію інталу і випромінювання, а стромальні вірогідно реагують тільки на випромінювання (Рис. 4). Стабілізація парафолікулярних тканинних базофілів приводить до вірогідного збільшення розмірів "інтраепітеліальних" гемокапілярів шитовидної залози. Застосування інталу нівелювало різницю між застосованими дозами випромінювання (100R та 400R).

Таким чином, гетероморфність тканинних базофілів шитовидної залози мала місце і при змінах у популяції у відповідь на подразники. Тому закономірно виникло питання про наявність гетероморфності тканинних базофілів у тому випадку, коли і внутрішнє регулювання з боку організму, так і активна зовнішня дія відсутні. Був проведений експеримент з вивченням популяції тканинних базофілів шитовидної залози в умовах посмертних змін органу.

Морфометричне вивчення популяції тканинних базофілів у посмертно зміненому органі виявило різке, вірогідне зменшення кількості тканинних базофілів на 1 мм^2 зрізу через 10 хвилин після загибелі тварин (контроль -

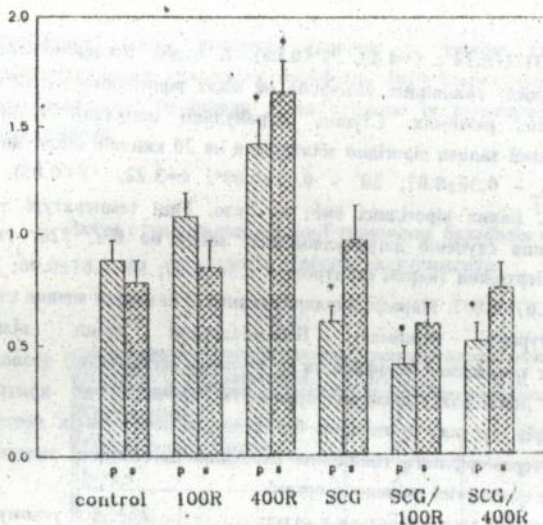


Рис. 4. Вплив різних доз випромінювання (R), інталу (SCG) та сумісної дії випромінювання та інталу на ступінь дегрануляції тканинних базофілів шийовидної залози у гострому експерименті. Р - парафолікулярні, S - інтерфолікулярні

тканинні базофіли. * - статистично вірогідна відмінність порівняно з контролем; $P < 0.05$.

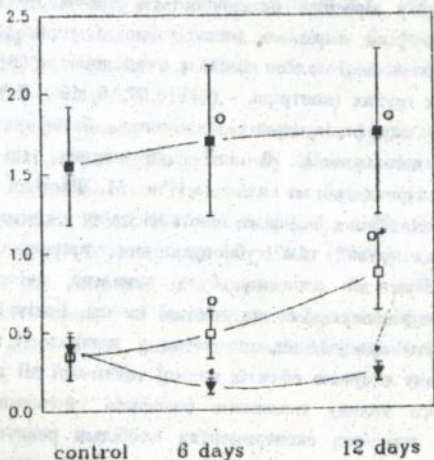


Рис. 5. Вплив атразину на ступінь дегрануляції тканинних базофілів шийовидної залози у гострому експерименті. ▽ - парафолікулярні, □ - інтерфолікулярні, ■ - капсулярні тканинні базофіли. * - статистично вірогідна відмінність порівняно з контролем; ○ - статистично вірогідна відмінність порівняно з парафолікулярними

тканинними базофілами; $P < 0.05$.

62.4±0.19; 10' - 31.2±0.14*; t=4.43, *P<0.05). В інших експериментальних групах зміна кількості тканинних базофілів не мала вірогідного характеру в обох температурних режимах. Ступінь дегрануляції популяції тканинних базофілів шитовидної залози вірогідно збільшився на 20 хвилин після загибелі тварин (контроль - 0.30±0.07, 20' - 0.72±0.09*; t=3.22, *P<0.05). При температурі +9°C інших вірогідних змін не було. При температурі +19°C вірогідне збільшення ступеню дегрануляції має місце на 80г, 320г та 640 хвилинах після умиртвіння тварин (контроль - 0.30±0.07; 80' 0.61±0.06; 320' - 0.7±0.14; 640' - 0.67±0.09). Парафолікулярні тканинні базофіли менше стійкі в обох температурних режимах. Взаємозалежні зміни кількості парафолікулярних тканинних базофілів та їх ступеню дегрануляції дозволяють припустити, що посмертні процеси приводять спочатку до критичного збільшення розмірів частини тканинних базофілів, а потім до їх деструкції. Таким чином, гетероморфність тканинних базофілів шитовидної залози була виявлена також у посмертно зміненому органі.

Гейбінд атразину застосовується у сільському господарстві в усьому світі, але його механізм дії на ряд органів вивчений недостатньо повно. Ми вивчили вплив цього препарату на субпопуляції тканинних базофілів як одного з показників стану шитовидної залози. При введенні атразину число тканинних базофілів на 1 мм² зрізу вірогідно не змінюється, також не змінюється кількість тканинних базофілів з різною локалізацією. Ступінь дегрануляції тканинних базофілів шитовидної залози виявляє тенденцію до зменшення у обох експериментальних групах (контроль - 0.47±0.07, 6 дб - 0.33±0.06, 12 дб - 0.42±0.07). У парафолікулярних тканинних базофілів вірогідно зменшується ступінь дегрануляції. В інтерфолікулярних він незначно підвищується, а у капсулярних змін не виявлено (Рис. 5). Вірогідні відмінності у ступеню дегрануляції тканинних базофілів мають місце як у контролі, так і в обох експериментальних групах між субпопуляціями тканинних базофілів шитовидної залози. При дії атразину була виявлена зміна багатьох морфометричних параметрів паренхіми шитовидної залози. Базуючись на цих фактах, можна висунути припущення, що зміни у морфології шитовидної залози після дії атразину є сумою ефектів прямої токсичної дії атразину та інгібування регулюючого впливу тканинних базофілів шитовидної залози. Таким чином, у всіх описаних експериментах найбільш реактивною була субпопуляція парафолікулярних тканинних базофілів. Дані експериментів у спрощеному вигляді зведені у таблиці 1. "+" то є збільшення ступеню дегрануляції, "-" - зменшення, * - вірогідна відміна при порівнянні з контролем. Загальна зміна ступеню дегрануляції тканинних базофілів

щитовидної залози повністю корелює зі зміною ступеню дегрануляції парафолікулярних тканинних базофілів. Інтерфолікулярні тканинні базофіли менш реактивні, та інколи зміна ступеню їх дегрануляції має протилежну направленість.

Таблиця 1.

Зміна ступеню дегрануляції тканинних базофілів щитовидної залози у різних експериментах

Дослід \ Дегрануляція	Загальна	P-F	I-F	C
Опромінення	+	+	+	-
Опромінення+інтал	-	-	-
Інтал	-	-	+
Атразин	-	-	+	+

Аналіз виявленої нами гетероморфності тканинних базофілів щитовидної залози з точки зору сучасних даних літератури дає можливість висловити припущення, що ця гетероморфність може бути пов'язана з: диференціюванням тканинних базофілів у різні субтипи (Gall S.J., 1984; Van-Overveld F.J., 1989); дією мікрооточення на кожний тканинний базофіл (Valent P., 1991; Gurish M.F., 1992; Montella A., 1992); або міграцією тканинних базофілів (Flynn E.A., 1991; Heard B.E., 1990).

Таким чином, кількісне вивчення популяції тканинних базофілів щитовидної залози щурів дало змогу не тільки підтвердити дані літератури про значну реактивність тканинних базофілів (Гербільський Л.В., 1986; Староселецька Е.М., 1987; Усенко В.С., 1989; Gally S.J., 1984, 1992; Van-Overveld F.J., 1989; Fujimaki H., 1992, 1993; Heard B.E., 1990), але вперше виділити дві популяції цих клітин, що поглиблює уяву про механізми дії зовнішніх чинників на щитовидну залозу і має бути враховано при вивченні реакції щитовидної залози на радіаційні, хімічні, фармакологічні т. інш чинники.

ВИСНОВКИ

1. У щитовидній залозі присутні дві субпопуляції тканинних базофілів, що відрізняються за локалізацією, цитохімічними властивостями та реакцією на дію екологічних чинників - парафолікулярна та інтерфолікулярна.

2. За локалізацією 55% тканинних базофілів щитовидної залози складають парафолікулярні, що зберігають контакт з базальними мембранами епітеліомерів після префіксації, та 43% - інтерфолікулярні. Близько 2% тканинних базофілів є капсулярними.

3. За цитохімічними властивостями парафолікулярні тканинні базофіли сафранінофільні. Інтерфолікулярні тканинні базофіли забарвлюються як сафраніном, так і альціановим блакитним, а також специфічно забарвлюються авідін-пероксидазою.

4. Після дії різних чинників гетероморфність тканинних базофілів щитовидної залози зберігається.

5. При різних дозах рентгеновського випромінювання інтенсивність дегрануляції парафолікулярних та інтерфолікулярних тканинних базофілів збільшується, у капсулярних тканинних базофілів інтенсивність дегрануляції зменшується.

6. Під дією інталу ступінь дегрануляції усієї популяції тканинних базофілів щитовидної залози зменшується за рахунок зменшення інтенсивності дегрануляції парафолікулярних тканинних базофілів. На дегрануляцію інтерфолікулярних тканинних базофілів інтал не впливає.

7. При спільній дії інталу та випромінювання ступінь дегрануляції у всій популяції тканинних базофілів щитовидної залози зменшується за рахунок зменшення дегрануляції парафолікулярних тканинних базофілів, інтенсивність дегрануляції інтерфолікулярних тканинних базофілів при цьому не змінюється.

8. При посмертних змінах щитовидної залози деструкція тканинних базофілів спостерігається вже через 20 хвилини, при цьому парафолікулярні тканинні базофіли характеризуються меншою стійкістю.

9. Під дією гербіциду атразину у парафолікулярних тканинних базофілів відбувається дозозалежне зменшення, а в інтерфолікулярних тканинних базофілів - збільшення ступеню дегрануляції.

10. При дії вивчених чинників на щитовидну залозу парафолікулярні тканинні базофіли є більш реактивною субпопуляцією ніж інтерфолікулярні тканинні базофіли.

11. Гетероморфність тканинних базофілів слід враховувати при вивченні дії екологічних чинників на щитовидну залозу.

**СПИСОК НАУКОВИХ РОБІТ, ОПУБЛІКОВАНИХ
ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ**

1. Gerbilsky L.V., Kornilovskaya I.N., Rusakov D.V. Thyroid mast cell heterogeneity // J. of Endocrinology. - 1992. - V. 135. - P. 70.
2. Березин В.А., Гербильский Л.В., Корниловская И.Н. Тиреоглобулин // Проблемы эндокринологии. - 1993. - N.4. - С. 56-59.
3. Пинская В.М., Корниловская И.Н., Кравченко А.И., Литвин В.С., Староселецкая Е.М., Усенко В.С., Шаронов И.А., Гербильский Л.В. Методические подходы к изучению механизмов действия экологических факторов на щитовидную железу // В кн.: Актуальные вопросы теоретической и клинической медицины. Днепропетровск. - 1993. - Т. 1. - С. 72-73.
4. Гербильский Л.В., Гарагуля И.С., Жицкая Г.Ф., Корниловская И.Н., Пинская В.М., Пушкарь С.И., Староселецкая Е.М., Султанова Н.Н., Усенко В.С. Морфологические критерии оценки жизнеспособности клеток щитовидной железы // В кн.: Критерии и методы оценки жизнеспособности тканей в раневом процессе, Санкт-Петербург. - 1993. - С. 77.
5. Корниловская И.Н., Барашник Т.В., Варех Н.А., Гербильский Л.В., Латышев Д.Ю., Макаров В.Б., Складнева А.В., Шиловский Д.Н. Компьютерное моделирование реакции тканевых базофилов щитовидной железы на действие экологических факторов // В кн.: Компьютерная техника и программное обеспечение в медицине, Днепропетровск. - 1993. - С. 33-34.
6. Gerbilsky L.V., Kornilovskaya I.N., Makarov V.B., Staroseletskaya E.M. Unspecific thyroid mast cells response to the various factors // J.of Endocrinology. - 1993. - P.134.
7. Gerbilsky L.V., Kornilovskaya I.N. Influence of the disodium chromoglycate on the subtypes of the thyroid mast cell // 13th Meeting of British Endocrine Society. - 1994. - P.38.
8. Kornilovskaya I.N. Thyroid mast cell heterogeneity in rat: functional properties in response to the herbicide atrazine in rat // European J. of Endocrinology. - 1994. - V. 130. - P. 12f
9. Гербильський Л.В., Корниловська І.М. Дія екологічних чинників на стан тканинних базофілів щитовидної залози // В кн.: Сучасні проблеми експериментальної та клінічної ендокринології, Київ. - 1994. - С. 260.
10. Gerbilsky L.V., Usenko V.S., Demerdzhi R.C., Kornilovskaya I.N. Maile S. Epitheliomer: a new paradigm of thyroid gland morphological organization // XIV Federative International Congress of Anatomy, Lisboa. - 1994. - P. 607.

11. Корниловская И.Н. Тканевые базофилы как предмет изучения экологической гистологии // В кн.: Актуальные проблемы экологической гистологии. Днепропетровск. - 1994. - С. 80-82.

12. Корниловская И.Н., Макароп В.Б. Гетерогенность реакции тканевых базофилов щитовидной железы на действие экологических факторов // I Національний конгрес АГЕ України. Івано-Франківськ. - 1994. - С. 87-88.

13. Корніловська І.М. Вплив пестициду атразину на щитовидну залозу у гострому досліді // I Національний конгрес АГЕ України. Івано-Франківськ. - 1994. - С. 87.

14. Stepura V.P., Kornilovskaya I.N., Fedotov V.P., Gerbilsky L.V. Influence of the 2-mercaptobenzthiazol-kaptaks-mebetizol on the thyroid gland structure // Canadian J. of Physiology and Pharmacology. - 1994. - V. 72. - P. 220.

15. Спосіб префіксації органів та суміш для його здійснення. Рахпропозиція №38/94 від 28.10.94 р. Дніпропетровська державна медична академія. Корніловська І.М., Жицька Т.Ф., Султанова Н.М., Гербільський Л.В.

16. I.N.Kornilovskaya, M.V.Gorelaya, V.S.Usenko, L.V.Gerbilsky, V.A.Berezin Histological studies of atrazine toxicity on the thyroid gland in rats // Biomedical and Environmental Sciences. - in press.

Корниловская И.Н. Действие некоторых экологических факторов на тканевые базофилы щитовидной железы (экспериментальное исследование)

Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 14.00.23 - гистология, цитология, эмбриология, Киевский университет им. Тараса Шевченко, Киев, 1994.

Защищаются результаты экспериментальных исследований, изложенные и обобщенные в диссертации, 14 опубликованных научных работах и 1 рацпредложении. Установлено, что в щитовидной железе существует две субпопуляции тканевых базофилов, которые отличаются по локализации, цитохимическим характеристикам, по физиологической активности и реакции на действие экологических факторов - парафолликулярная и интерфолликулярная. Парафолликулярные тканевые базофилы являются наиболее реактивной субпопуляцией.

Kornilovskaya I.N. Influence of the some ecological factors on the thyroid mast cells (experimental research).

Thesis to obtain the candidate of biological sciences in the speciality 14.00.23 - histology, cytology, embryology, Kiev University by name Taras Shevchenko, Kiev, 1994.

14 scientific articles, 1 rationalisation proposal and thesis is defended. The results suggest that differences in response to the some ecological factors might account an aspect of the functional heterogeneity within the rat thyroid mast cell population. There are, at least, two different subpopulations of thyroid mast cells: the parafollicular and the interfollicular. The parafollicular cells are the most sensitive thyroid mast cells.

Ключові слова: тканиний базофіл, щитовидна залоза, гетероморфність, екологічні чинники.

Подписано к печати . формат 60x84 1/16,
усл.печ.л.2,25, заказ 40, тираж 100, Д'Н

AB 31.600

AB 31.600