

На правах рукописи

Следнева Юлия Петровна

**ВОЗРАСТНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ГИСТОФИЗИОЛОГИИ
ФОЛЛИКУЛЯРНОГО ЭПИТЕЛИЯ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ
САМЦОВ И САМОК КРЫС ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ЭНДОКРИННОГО
ДИСРАПТОРА ДДТ**

03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Москва – 2017

Работа выполнена в ФГБНУ «Научно-исследовательский институт морфологии человека»

Научный руководитель:
доктор медицинских наук

Яглова Наталья Валентиновна

Официальные оппоненты:

Профессор кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии ГБОУ ВПО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации
доктор медицинских наук, доцент **Боронихина Татьяна Владимировна**

Заведующая кафедрой анатомии человека ФГБОУ ВО «Ярославский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации
доктор медицинских наук, профессор **Румянцева Татьяна Анатольевна**

Ведущая организация: ФГБОУ ВО «Рязанский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (390026 г. Рязань, ул. Высоковольтная, д. 9)

Защита состоится «_____» _____ 2017г. в _____ часов на заседании диссертационного совета Д 001.004.01 при ФГБНУ «НИИ морфологии человека» по адресу: 117418, г. Москва, ул. Цюрупы, д.3.

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке ФГБНУ «НИИ морфологии человека» по адресу: 117418, г. Москва, ул. Цюрупы, д.3. и на сайте института www.morfolhum.ru

Автореферат разослан «_____» _____ 2017г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
доктор медицинских наук

Л.П. Михайлова

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования: Эндокринные дисрапторы – это экзогенные вещества, как правило, антропогенного происхождения, нарушающие любые этапы продукции и взаимодействия гормонов с клетками-мишенями. Они действуют в ничтожно низких дозах, аналогичных дозам естественных гормонов, что приводит к нарушению гормональных механизмов эндогенной регуляции метаболических процессов, репродуктивной функции и адаптивных реакций организма. Влияние эндокринных дисрапторов на развитие и функционирование желез внутренней секреции является одной из приоритетных проблем фундаментальных и клинических исследований в медицине [Diamanti-Kandarakis E. et al., 2009]. Это связано с неуклонным увеличением эндокринопатий среди взрослого населения, детей и подростков как в развивающихся, так и развитых странах [ВОЗ, 2013 г., McGrogan A. et al., 2008]. По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) среди заболеваний эндокринной системы ведущее место, как по распространенности, так и увеличению заболеваемости занимают болезни щитовидной железы (ЩЖ) [WHO, 2012; ВОЗ, 2013]. Скрининговые исследования показывают наличие связи между нарушениями тиреоидного статуса организма и воздействием различных классов эндокринных дисрапторов [Yoshinari M. et al., 1985]. Одним из первых веществ, у которого были выявлены свойства эндокринного дисраптора, был дихлордифенилтрихлорэтан (ДДТ) [Wollman S.R. et al., 1981; WHO, 2012]. ДДТ – пестицид, который широко применялся в сельском хозяйстве и используется в качестве средства для борьбы с трансмиссивными заболеваниями в настоящее время, что привело к его распространению и персистенции во всех экосистемах планеты [WHO, 2012]. Основным источником воздействия низких доз ДДТ, не оказывающих токсического действия на организм, в развитых странах являются продукты питания [UNEP, 2012]. Максимально допустимые уровни содержания ДДТ в пищевых продуктах регламентированы ВОЗ и государственными нормативными актами [СанПин 2.3.2.1078-01., 2008].

Степень разработанности темы исследования: На сегодняшний день ДДТ рассматривается как вещество, способное в крайне низких дозах оказывать антиандрогенное действие [Gray LE.Jr. et al., 2006]. Скрининговые исследования показывают, что длительное воздействие ДДТ на лиц, занятых в сельском хозяйстве, приводит к снижению функциональной активности ЩЖ [Sharma VM. et al., 2014]. В лаборатории развития эндокринной системы ФГБНУ «НИИ морфологии человека» был

выполнен цикл экспериментальных исследований по влиянию низких доз ДДТ на секреторную деятельность ЩЖ половозрелых крыс, определивший характер изменений гормоногенеза в ЩЖ, механизмы и проявления дисрапторного действия ДДТ, реактивные и компенсаторные изменения в железе [Яглова Н.В., 2013; Яглова Н.В. с соавт., 2014, 2015]. Данные о функциональной морфологии ЩЖ, изменениях секреции гормонов, ее регуляции при воздействии ДДТ на развивающийся организм, как и динамические исследования секреторной деятельности в различные этапы постнатального онтогенеза не исследованы. Также крайне мало изученными являются половые особенности функционирования ЩЖ в условиях воздействия эндокринных дисрапторов [Orton F., 2011], что является актуальной проблемой, так как превалирование тиреоидной патологии различного генеза у женщин является общеизвестным фактом.

Цель исследования – изучить возрастные изменения гистофизиологии фолликулярного эпителия щитовидной железы самцов и самок крыс при воздействии эндокринного дисраптора ДДТ.

Задачи:

1. Изучить морфологические изменения щитовидной железы, изменения ультраструктуры фолликулярных тироцитов, тиреоидного статуса и экспрессии ключевых молекул, обеспечивающих йодирование тирозилов в фолликулярных тироцитах, самцов крыс в пубертатном периоде при воздействии эндокринного дисраптора ДДТ с первого дня постнатального онтогенеза.
2. Изучить морфологические изменения щитовидной железы, изменения ультраструктуры фолликулярных тироцитов, тиреоидного статуса и экспрессии ключевых молекул, обеспечивающих йодирование тирозилов в фолликулярных тироцитах, самок крыс в пубертатном периоде при воздействии эндокринного дисраптора ДДТ с первого дня постнатального онтогенеза.
3. Изучить морфологические изменения щитовидной железы, изменения ультраструктуры фолликулярных тироцитов, тиреоидного статуса и экспрессии ключевых молекул, обеспечивающих йодирование тирозилов в фолликулярных тироцитах, самцов крыс в постпубертатном периоде при воздействии эндокринного дисраптора ДДТ с первого дня постнатального онтогенеза.
4. Изучить морфологические изменения щитовидной железы, изменения ультраструктуры фолликулярных тироцитов, тиреоидного статуса и экспрессии ключевых мо-

лекул, обеспечивающих йодирование тирозилов в фолликулярных тироцитах, самок крыс в постпубертатном периоде при воздействии эндокринного дисраптора ДДТ с первого дня постнатального онтогенеза.

Научная новизна:

Выявлены возрастные и гендерные особенности гистофизиологии фолликулярного эпителия щитовидной железы крыс, подвергавшихся с первых дней жизни воздействию низких доз эндокринного дисраптора ДДТ.

Возрастные особенности гистофизиологии фолликулярного эпителия при воздействии низких доз ДДТ характеризуются снижением синтеза натрий-йодного симпортера, нарушением трансмембранного транспорта тироглобулина и уменьшением числа лизосом в пубертатном периоде. После наступления половой зрелости наблюдается усиление всех фаз секреторного цикла фолликулярных эпителиоцитов.

Снижение синтеза натрий-йодного симпортера и развитие реактивных изменений в фолликулярных тироцитах у развивающихся организмов при воздействии низких доз ДДТ с первых дней жизни происходит медленнее по сравнению со взрослыми особями. Впервые показана неспособность щитовидной железы в постпубертатном периоде к перестройке паренхимы и новообразованию фолликулов в ответ на длительную стимуляцию тиреотропным гормоном, что приводит к гибели участков паренхимы вследствие длительного усиления функциональной активности фолликулярного эпителия.

Впервые выявлены гендерные особенности морфологических и функциональных изменений щитовидной железы в пубертатном и постпубертатном периодах, обусловленных дисрапторным действием ДДТ.

В пубертатном периоде у самок крыс нарушения секреторной деятельности фолликулярных тироцитов более выражены, а реактивные изменения развиваются медленнее, чем у самцов, но после достижения половой зрелости изменения гистофизиологии фолликулярного эпителия, направленные на усиление секреторной активности, у самок выражены в большей степени.

Теоретическая и практическая значимость работы:

Теоретическая значимость результатов исследования заключается в выявлении основных закономерностей и половых особенностей гистофизиологии щитовидной железы в различные периоды онтогенеза при воздействии эндокринного дисраптора ДДТ на развивающийся организм. Полученные данные являются основой для изучения молекулярных механизмов пролиферации, дифференцировки, секреторной деятельности и

апоптоза фолликулярных тироцитов в условиях воздействия различных классов эндокринных дисрапторов.

Установление этиологической роли эндокринного дисраптора ДДТ в снижении функциональной активности щитовидной железы целесообразно учитывать эндокринологам при дифференциальной диагностике гипотиреозов, обусловленных недостаточным поступлением йода, и аутоиммунных тиреоидитов.

Гибель больших участков паренхимы железы, обусловленная гиперфункцией фолликулярных тироцитов, без реактивных воспалительных изменений является морфологическим признаком действия эндокринного дисраптора ДДТ, что необходимо учитывать при морфологическом исследовании щитовидной железы.

Результаты исследования показывают, что воздействие ДДТ на развивающийся организм в дозах, допустимых нормативами его содержания в продуктах питания, оказывает неблагоприятное воздействие на щитовидную железу.

Предложен комбинированный способ гистохимического выявления дезоксирибонуклеопротеинов, полисахаридов и углеводных компонентов биополимеров в полутонких срезах тканей и органов, характеризующийся простотой исполнения и отсутствием органоспецифичности.

Внедрение результатов исследования: Основные результаты диссертационного исследования внедрены в учебный процесс кафедры гистологии, эмбриологии ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов». Комбинированный способ гистохимического выявления дезоксирибонуклеопротеинов, полисахаридов и углеводных компонентов биополимеров в полутонких срезах тканей и органов внедрен в работу лабораторий ФГБНУ «НИИ морфологии человека».

Методология и методы исследования: Методология заключалась в системном подходе и комплексном анализе результатов морфологического исследования и их сопоставлении с данными биохимических исследований. Проведен критический анализ научных трудов отечественных и зарубежных ученых в области морфогенеза и секреторной деятельности щитовидной железы. На основании анализа были сформулированы задачи работы – изучение возрастных изменений гистофизиологии фолликулярного эпителия при воздействии эндокринного дисраптора ДДТ с первых дней жизни и их особенностей в зависимости от пола. В экспериментальном исследовании *in vivo* по воздействию низких доз ДДТ путем перорального свободного потребления лабораторными животными использован комплекс морфологических (компьютерная морфометрия гистологических

препаратов, гистохимия, трансмиссионная электронная микроскопия), комбинированных методик (иммуногистохимическое исследование методом световой микроскопии в сочетании с количественным иммунометрическим определением исследуемых протеинов в сыворотке крови), биохимических (иммуноферментный анализ) и статистических методов. Морфологическое, иммуногистохимическое и ультраструктурное исследования щитовидной железы проводили с учетом региональных особенностей ее строения у крыс.

Положения, выносимые на защиту:

1. Воздействие низких доз эндокринного дисраптора ДДТ с первого дня постнатального онтогенеза изменяет гистофизиологию фолликулярного эпителия щитовидной железы крыс, что обусловлено снижением экспрессии фолликулярными тироцитами натрий-йодного симпортера, нарушением транспорта тироглобулина через апикальную мембрану и снижением его протеолиза, и приводит к уменьшению продукции тиреоидных гормонов в пубертатном периоде.
2. У самок крыс в пубертатном периоде транспорт тироглобулина через апикальную мембрану и формирование лизосом нарушаются в меньшей степени, но у самцов реактивное усиление синтеза тироглобулина и тиреопероксидазы под влиянием повышенного уровня ТТГ развивается быстрее, чем у самок, и проявляется уже в пубертатном периоде, что обуславливает менее выраженное снижение функциональной активности органа в этом возрасте.
3. Продолжающееся после достижения половой зрелости воздействие низких доз эндокринного дисраптора приводит к гибели фолликулярного эпителия и разрушению фолликулов, обусловленным значительным усилением секреторной активности клеток в ответ на прогрессирующее снижение синтеза натрий-йодного симпортера, а не к увеличению числа фолликулов в паренхиме – основному компенсаторному изменению, направленному на восстановление тиреоидного статуса организма.
4. В отличие от самцов у самок крыс продолжающееся усиление секреции не только ТТГ, но и его рецепторов обуславливает активацию синтеза тиреопероксидазы и формирование цитоплазматических выростов на апикальной поверхности тироцитов для интенсификации транспорта через апикальную мембрану, но также не приводит к новообразованию фолликулов.

Степень достоверности и апробация результатов:

Достоверность результатов обеспечивается определением перечня задач, решение которых позволяет достичь цели исследования, формированием достаточного количества репрезентативных контрольных и опытных групп, выбором адекватных для поставленных задач современных высокочувствительных методов исследования, статистической оценкой значимости выявленных изменений, предварительным анализом научной литературы и последующим сравнительным анализом полученных данных с данными других исследователей.

Результаты диссертационного исследования доложены и обсуждены на VI Международной научной конференции «Science for Health-2015: Клинические и теоретические аспекты современной медицины» (Москва, 2015), IV Международной междисциплинарной конференции «Современные проблемы системной регуляции физиологических функций» (Москва, 2015), Всероссийской конференции с международным участием «Актуальные вопросы морфогенеза в норме и патологии» (Москва, 2016), V Симпозиуме «Морфогенез органов и тканей под влиянием экзогенных факторов» (Симферополь, 2016), Международной научной конференции «Медицина и здравоохранение -2016», межлабораторной конференции ФГБНУ «НИИ морфологии человека» (1 марта 2017г.).

Диссертация соответствует паспорту научной специальности 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология согласно пунктам 5, 6, 7.

Публикации: по теме диссертационного исследования опубликовано 10 печатных работ, включая 6 статей в журналах, входящих в Перечень РФ рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук и ученой степени доктора наук.

Личный вклад автора заключается в самостоятельном проведении эксперимента на лабораторных животных, изготовлении и самостоятельной морфологической оценки гистологических препаратов, анализе полученных данных и их статистической обработки, анализе научной литературы по теме исследования, подготовке докладов и публикаций.

Объем и структура диссертации: Диссертация изложена на 218 страницах текста и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов, результатов собственных исследований, обсуждения полученных результатов и заключения. Работа иллюстрирована 110 рисунками и 9 таблицами. Список литературы включает 144 источника, из них 30 отечественных и 114 зарубежных.

Материалы и методы исследования

Эксперимент выполнен на новорожденных самцах и самках крыс Вистар (n=64) (филиал «Столбовая» ФГБУН НЦБМТ ФМБА России). За животными, содержащимися в виварии, осуществлялся уход по нормам и правилам обращения с лабораторными животными, в соответствии с «Международными рекомендациями по проведению медико-биологических исследований с использованием животных» (1985г.), правилами лабораторной практики в Российской Федерации (приказ МЗ РФ от 19.06.2003г. №267) и законом «О защите животных от жестокого обращения» гл. V, ст. 10, 4679-ГД от 01.12.1999г. На проведение эксперимента получено разрешение биоэтического комитета ФГБНУ «НИИ морфологии человека» (протокол № 8а от 06.10.2011г.).

Животных рандомизировали на 8 групп: 4 контрольные (2 группы самцов и 2 группы самок) и 4 опытные (2 группы самцов и 2 группы самок) соответственно двум срокам исследования. Моделировали потребление ДДТ новорожденными: сначала крысята первые три недели получали ДДТ с молоком матери, потреблявшей вместо воды растворы о,п-ДДТ («Sigma», США) с концентрацией 20мкг/л, а затем самостоятельно аналогичный раствор до достижения ими 6 (пубертатный период) и 10 недельного (постпубертатный период) возраста. Доступ к воде и пище у крыс был свободным. Учет потребляемой жидкости производили ежедневно. Среднесуточное потребление кормящими самками ДДТ составило $6,25 \pm 0,25$ мкг/кг, а самостоятельное потребление ДДТ крысятами составило $3,71 \pm 0,15$ мкг/кг, что является кинетически обоснованной дозой, соответствующей потреблению ДДТ человеком с продуктами питания в развитых странах [Zhuang S., 2012]. Расчет потребляемой дозы ДДТ производили с учетом требований к определению низких доз [Vandenberg L. et al., 2012] и нормативам содержания ДДТ в продуктах питания в Российской Федерации [СанПин 2.3.2.1078-01, 2008]. Предварительно было подтверждено отсутствие ДДТ и его метаболитов, а также близких по структуре хлорорганических соединений в корме и воде для лабораторных животных методом газожидкостной хроматографии в ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в городе Москве». Крыс выводили из эксперимента передозировкой золетила («Virbac Sante Animale», Франция). Кровь собирали в стеклянные пробирки, получали сыворотку. Удаляли правую и левую доли ЩЖ.

Изготовление и изучение гистологических препаратов ЩЖ. После стандартной гистологической проводки с помощью гистопроцессора «Tissue-Tek VIP 5 Jr» («Hygesc», Франция) доли ЩЖ заливали в парафин. Срезы изготавливали с помощью

микротомы «Micom HM 340E» («Micom GmbH», Германия) и окрашивали гематоксилином и эозином, проводили ШИК-реакцию с помощью гистологических красителей и реактивов «Biovitrum» (Россия). Изучали гистологические препараты методом световой микроскопии с использованием микроскопа «Leica DM2500» и компьютерной морфометрии с помощью программы «ImageScope» («Leica Microsystems, GmbH», Германия). Морфометрические исследования выполняли по отдельности в периферических (верхняя и нижняя треть долей) и центральной (средняя треть долей) зонах долей ЩЖ в связи с особенностями развития и функционирования этих участков паренхимы у крыс [Гайдук В.С., 1992; Яглова Н.В., 2011]. Определяли площадь среза фолликула, площадь коллоида и его содержание в полости фолликула, высоту фолликулярного эпителия и его процентное содержание в фолликуле, площадь ядер фолликулярного эпителия. Вычисляли индекс Брауна (ИБ) как соотношение диаметра полости фолликула с высотой фолликулярных тироцитов, умноженной на два. Определяли общее количество фолликулов в мм² площади среза органа.

Электронно-микроскопические исследования. Для изучения ультраструктуры фолликулярных тироцитов кусочки ЩЖ фиксировали в 2,5% растворе глutarового альдегида с постфиксацией в 1% растворе OsO₄ и последующей заливкой в смесь эпон-аралдит. Изготавливали полутонкие срезы с помощью ультратома «PowerTome XL» («RMC Bockeler», США). Для исследования их методом световой микроскопии был разработан комбинированный способ гистохимического выявления дезоксирибонуклеопротеинов, полисахаридов и углеводных компонентов биополимеров в полутонких срезах тканей и органов в полутонких срезах образцов, залитых в комбинированные смолы. Изготавливали ультратонкие срезы. Исследование срезов проводили методом трансмиссионной электронной микроскопии («Libra 120», «Carl Zeiss», Германия).

Комбинированное исследование экспрессии НЙС и ТПО фолликулярным эпителием. Для проведения иммуногистохимических реакций использовали антитела к ТПО («Santa Cruz Biotechnology», США), и НЙС («Abcam», США), а также набор реактивов «UltraVision LP detection system», («ThermoFisher Scientific», США) для проявления иммунопероксидазной реакции. Срезы докрашивали гематоксилином Майера. Исследование проводили в световом микроскопе при увеличении от 400 до 1000. В препарате подсчитывали не менее 400 фолликулярных тироцитов. Вычисляли процент клеток с высокой, умеренной и низкой экспрессией антигена. Высокой экспрессией считали диффузное распределение антигена в цитоплазме, умеренной – обнаружение антигена в апи-

кальной части клеток для ТПО и базальной – для НЙС, низкой – обнаружение ТПО только на апикальной мембране, НЙС – базолатеральной [Lloyd R., 2010]. Проводили определение концентрации НЙС и ТПО в сыворотке крови крыс методом твердофазного иммуноферментного анализа с помощью наборов («Cusabio», Китай).

Изучение тиреоидного статуса крыс. В сыворотке крови крыс методом иммуноферментного анализа определяли концентрации Т4, сТ4, Т3, сТ3, ТГ, ТТГ, рецепторов ТТГ с помощью наборов реактивов («Monobind», США; «Cusabio», Китай). Детекцию проводили на микропланшетном фотометре «Anthos 2010» («ANTHOS Labtec. Instruments, GmbH», Австрия).

Статистическая обработка полученных данных. Полученные данные подвергали статистическому анализу с помощью программы Statistica 7.0 («Statsoft Inc.», США). Для описания количественных признаков проводили анализ соответствия вида распределения признака закону нормального распределения с использованием критериев Колмогорова-Смирнова, Лиллиефорса, Шапиро-Уилка. Центральные тенденции и рассеяния количественных признаков, имеющих приближенно нормальное распределение, описывали средним значением M и стандартной ошибкой среднего значения m . Сравнение независимых групп по количественному признаку проводили с помощью t-критерия Стьюдента с учетом значений критерия Левена о равенстве дисперсий, по качественному признаку – χ^2 . Статистически значимыми различия считались при $p < 0,01$.

РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Морфологические изменения щитовидной железы и ультраструктуры фолликулярных тироцитов у самцов крыс в пубертатном периоде при воздействии эндокринного дисраптора ДДТ с первого дня постнатального онтогенеза

В ЩЖ самцов крыс опытной группы региональные различия в строении паренхимы долей сохранялись. Количество фолликулов в мм^2 площади среза ЩЖ не отличалось от значений контрольной группы (табл. 1). Периферическая зона долей ЩЖ была представлена фолликулами более крупных размеров, чем у крыс контрольной группы (табл. 1). Высота фолликулярных тироцитов соответствовала значениям контрольной группы, но размеры их ядер были меньше (табл. 1). В центральной зоне долей ЩЖ размер фолликулов и высота фолликулярных тироцитов превышали контрольные значения, а размеры ядер тироцитов были статистически значимо меньшими (табл. 1). В ряде фолликулов встречались ШИК-положительные включения ТГ в цитоплазме эпителиоцитов.

При электронно-микроскопическом исследовании выявлены изменения в ультраструктуре фолликулярных тироцитов. В периферической зоне долей отмечалось умеренное расширение ГЭПС, митохондрии локализовались в основном в апикальной части клеток и имели продолговатую форму. В единичных митохондриях наблюдался отек матрикса и деструкция крист. Комплекс Гольджи компактно располагался в апикальной или латеральной части клеток. Количество лизосом было небольшим, они имели различную электронную плотность. Коллоидные капли в цитоплазме практически не встречались, что свидетельствует о снижении резорбции ТГ [Алешин Б.В. 1983; Миловидова Н.С., 1974]. Однако, в единичных фолликулярных тироцитах выявлялись большие скопления резорбированного коллоида в цитоплазме. Под апикальной мембраной скапливалось большое количество секреторных гранул, что указывает на замедление их выделения в полость фолликулов [Миловидова Н.С., 1974]. По сравнению с контрольной группой строение, размеры и электронная плотность микроворсинок на апикальной поверхности тироцитов практически не изменялись.

В центральных зонах долей ЩЖ в фолликулярных тироцитах большую часть цитоплазмы занимала ГЭПС, которая была представлена резко расширенными канальцами, заполненными хлопьевидным содержимым низкой электронной плотности. Митохондрии в центральных зонах в отличие от периферических зон имели округлую форму, были значительно крупнее. Большинство митохондрий с выраженным отеком матрикса и деструкцией крист. Часть митохондрий контактировала с лизосомами с образованием аутофаголизосом. Комплекс Гольджи в основном располагался в апикальной части клеток, его цистерны были расширены и заполнены осмиофобным содержимым. Количество лизосом было невелико, чаще встречались незрелые лизосомы. Количество секреторных гранул в апикальной части фолликулярных тироцитов было умеренным. Матрикс микроворсинок на апикальной поверхности клеток был просветлен. Часто были видны фигуры “перистальтики” микроворсинок, свидетельствующие о транспорте ТГ. В цитоплазме выявлялись коллоидные капли различного размера. Это указывает на меньшую степень нарушения транспорта ТГ через апикальную мембрану по сравнению с периферическими зонами долей [Миловидова Н.С., 1974]. Капилляры ЩЖ имели открытый и закрытый просвет. Просвет части капилляров был обтурирован эритроцитами.

Табл. 1

Изменения морфометрических показателей щитовидной железы самцов и самок крыс пубертатного возраста (6 недель), потреблявших ДДТ в низких дозах с первого дня постнатального онтогенеза ($M \pm m$)

Группы Параметры	Самцы				Самки			
	Контрольная группа		Опытная группа		Контрольная группа		Опытная группа	
	Периферические зоны долей ЩЖ	Центральная зона долей ЩЖ	Периферические зоны долей ЩЖ	Центральная зона долей ЩЖ	Периферические зоны долей ЩЖ	Центральная зона долей ЩЖ	Периферические зоны долей ЩЖ	Центральная зона долей ЩЖ
Площадь срезов фолликулов, мкм^2	5443,04 $\pm 257,41$	3386,76 $\pm 107,04$	6593,60 $\pm 565,73^\wedge$	3892,03 $\pm 202,99^\wedge$	6043,73 $\pm 281,08^\wedge$	3452,86 $\pm 115,75^{*\wedge}$	6575,73 $\pm 296,29^*$	3756,42 $\pm 114,89^*$
Содержание коллоида в полости фолликулов, %	76,61 $\pm 0,96$	83,13 $\pm 3,09$	79,23 $\pm 1,19$	74,95 $\pm 1,47^\wedge$	84,62 $\pm 3,82$	77,83 $\pm 1,14^\wedge$	75,03 $\pm 0,91$	79,87 $\pm 0,76$
Высота фолликулярных тироцитов, мкм	10,40 $\pm 0,19$	8,89 $\pm 0,18$	11,18 $\pm 0,26^\wedge$	10,41 $\pm 0,25^\wedge$	13,43 $\pm 1,18^\wedge$	9,55 $\pm 0,14^{*\wedge}$	10,54 $\pm 0,21$	9,28 $\pm 0,07$
Площадь срезов ядер, мкм^2	25,40 $\pm 0,32$	24,58 $\pm 0,29$	22,02 $\pm 0,35^\wedge$	21,39 $\pm 0,36^\wedge$	25,40 $\pm 1,15^{*\wedge}$	21,15 $\pm 0,26^\wedge$	22,61 $\pm 0,25^*$	22,89 $\pm 0,26^*$
ИБ	1,58 $\pm 0,07$	1,62 $\pm 0,15$	1,52 $\pm 0,11$	1,35 $\pm 0,09$	1,74 $\pm 0,06$	1,3 $\pm 0,05$	1,72 $\pm 0,06$	1,54 $\pm 0,09$
Количество фолликулов/ мм^2 среза	223,20 $\pm 11,52$		217,64 $\pm 11,95$		219,25 $\pm 3,82$		226,17 $\pm 4,07$	

Примечания: *- статистически значимые отличия от значений контрольной группы, $^\wedge$ - статистически значимые отличия значений группы самок от группы самцов.

Выявленные морфологические изменения ЩЖ крыс указывают на неоднородность реакции периферических и центральной зон. В клетках центральной зоны синтетические процессы были выражены сильнее. В периферической зоне процессы синтеза и выведения ТГ в полость фолликулов преобладали над его резорбцией, что приводило к их растяжению. Результаты исследования показали, что при воздействии ДДТ с первого дня постнатального развития не наблюдается столь выраженной асинхронии функционирования фолликулярного эпителия и разобщения фаз секреторного цикла, как у взрослых животных, подвергавшихся аналогичному по срокам и дозам воздействию ДДТ [Яглова Н.В. с соавт., 2016].

Изменения тиреоидного статуса и экспрессии ключевых молекул, обеспечивающих йодирование тирозилов в фолликулярных тироцитах, у самцов крыс в пубертатном периоде при воздействии эндокринного дисраптора ДДТ с первого дня постнатального онтогенеза

Через 6 недель потребления ДДТ у самцов крыс отмечалось статистически значимое снижение концентрации Т4 в среднем на 18%, повышение ТТГ на 37% и рецепторов к ТТГ на 74% по сравнению с контрольной группой (табл.2), но реактивного повышения продукции Т3 как у половозрелых крыс, подвергавшихся воздействию аналогичных доз ДДТ в течение 6-ти недель, не наблюдалось [Яглова с соавт., 2013].

Табл. 2.

Тиреоидный статус самцов и самок крыс, подвергавшихся длительному воздействию низких доз ДДТ в постнатальном развитии, и контрольной группы в пубертатном периоде (M±m)

Показатели \ Группы	Самцы		Самки	
	Контрольная группа	Опытная группа	Контрольная группа	Опытная группа
Т4, мкг/дл	2,54±0,19	2,07±0,18*	2,57±0,21	2,32±0,19*
сТ4, нг/дл	1,50±0,04	1,54±0,04	1,37±0,09	1,51±0,08
Т3, нг/мл	0,86±0,05	0,94±0,04	1,25±0,09^	1,08±0,03*^
сТ3, пг/мл	2,10±0,18	2,03±0,13	2,74±0,16^	2,29±0,13*
Тироглобулин, нг/мл	19,34±0,93	19,74±0,33	19,62±0,19	19,23±0,69
ТТГ, мкМЕ/мл	0,68±0,03	0,93±0,04*	0,64±0,03	1,68±0,03*^
Рецептор ТТГ, МЕ/л	2,97±0,13	5,16±0,23*	2,78±0,11	4,07±0,18*^

Примечания: *- статистически значимые отличия от значений контрольной группы, ^- статистически значимые отличия значений группы самок от группы самцов.

У самцов крыс контрольной группы в пубертатном периоде выявлено превалирование экспрессии НИС в тироцитах периферической зоны долей ЩЖ (рис. 1а). и отсутствие региональных различий в экспрессии ТПО (рис. 3а,б). У крыс, подвергавшихся

воздействию ДДТ, в пубертатном периоде выявлено уменьшение экспрессии НИС в периферических зонах долей, что приводило к снижению его концентрации в сыворотке крови (рис. 2а). Повышение синтеза ТПО происходило во всей паренхиме ЩЖ, но в центральной зоне долей было более выраженным, что отражалось в увеличении его концентрации в системном кровотоке (рис. 4а).

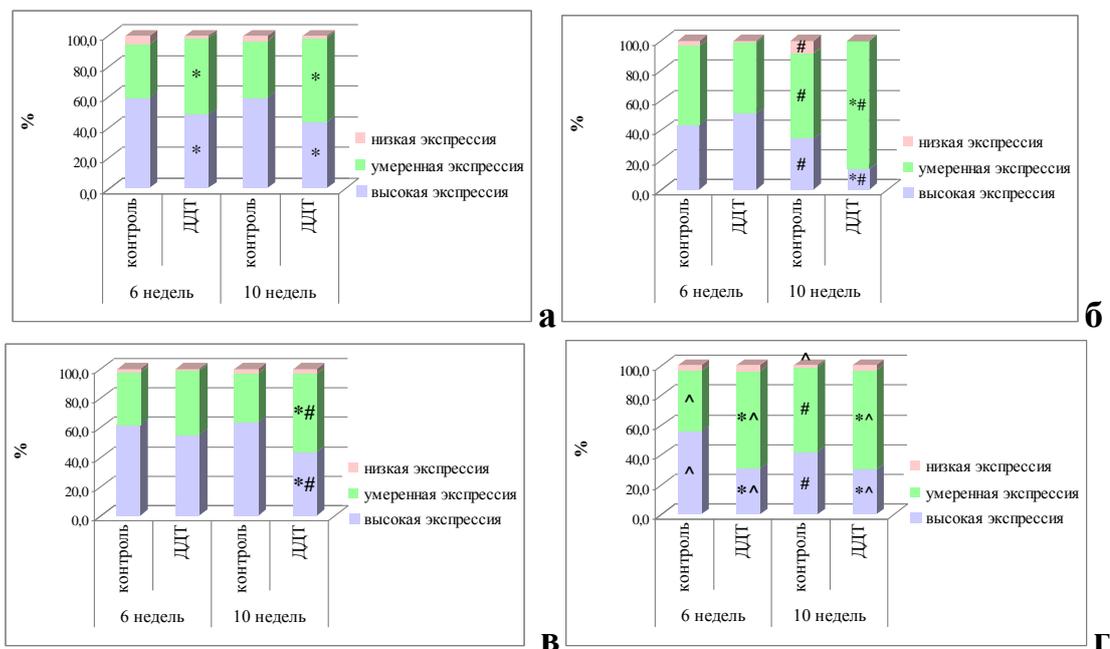


Рис. 1. Выраженность экспрессии натрий-йодного симпортера в фолликулярных тироцитах периферической (а) и центральной (б) зонах долей ЩЖ самцов и периферической (в) и центральной (г) зонах долей самок крыс, подвергшихся воздействию низких доз ДДТ, и контрольной группы в пубертатном (6 недель) и постпубертатном (10 недель) периоде.

Примечания: * – статистически значимые отличия от значений контрольной группы, # – от предыдущего срока исследования, ^ – группы самок от группы самцов.

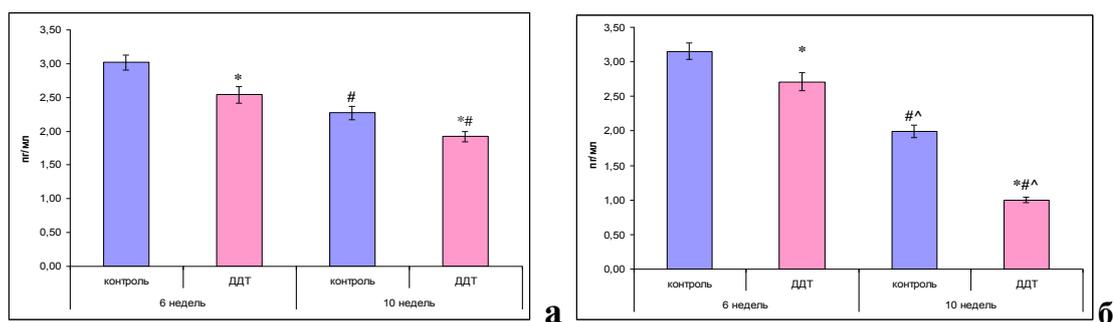


Рис. 2. Концентрация натрий-йодного симпортера в сыворотке крови самцов(а) и самок (б) крыс, подвергавшихся воздействию ДДТ, и контрольной группы в пубертатном (6 недель) и постпубертатном (10 недель) периодах, (M±m). Примечания: * – статистически значимые отличия от значений контрольной группы, # – от предыдущего срока исследования, ^ – группы самок от группы самцов.

Сравнение изменений экспрессии НИС и ТПО у крыс, подвергавшихся воздействию ДДТ с первого дня постнатального онтогенеза и после наступления половой зре-

лости в течение 6-ти недель, показывает меньшую степень снижения экспрессии НИС и меньшее увеличение продукции ТПО, направленной на усиление органификации йода [Яглова с соавт.,2013,2014].

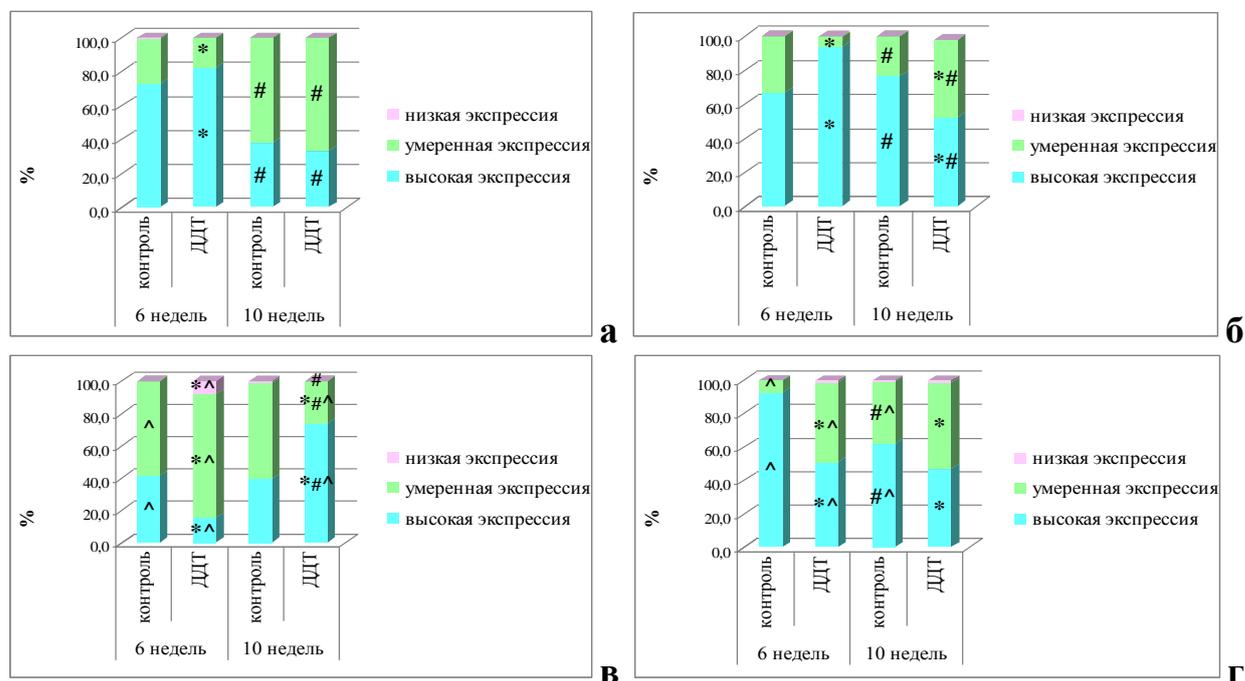


Рис.3. Выраженность экспрессии тиреопероксидазы в фолликулярных тироцитах периферической (а) и центральной (б) зонах долей ЩЖ самцов и периферической (в) и центральной (г) зонах долей самок крыс, подвергшихся воздействию низких доз ДДТ, и контрольной группы в пубертатном (6 недель) и постпубертатном (10 недель) периоде. Примечания: * – статистически значимые отличия от значений контрольной группы, # – от предыдущего срока исследования, ^ – группы самок от группы самцов.

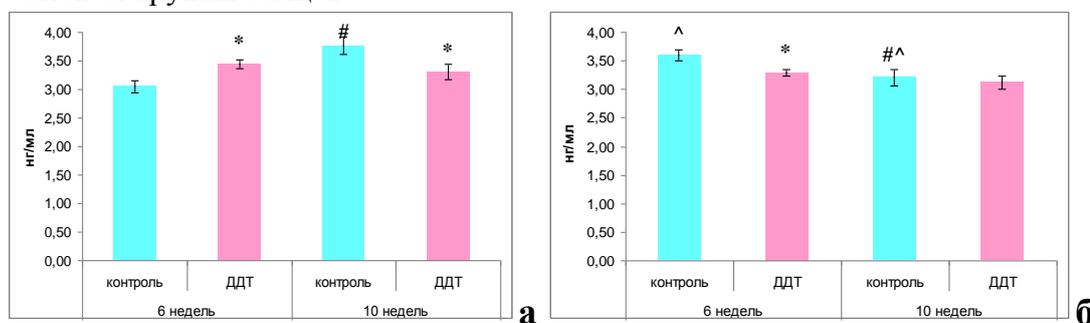


Рис. 4. Концентрация тиреопероксидазы в сыворотке крови самцов (а) и самок (б) крыс, подвергавшихся воздействию ДДТ, и контрольной группы в пубертатном (6 недель) и постпубертатном (10 недель) периодах, (M±m). Примечания: * – статистически значимые отличия от значений контрольной группы, # – от предыдущего срока исследования, ^ – статистически значимые отличия значений группы самок от группы самцов.

Морфологические изменения щитовидной железы и ультраструктуры фолликулярных тироцитов у самок крыс в пубертатном периоде при воздействии эндокринного дисраптора ДДТ с первого дня постнатального онтогенеза

В пубертатном периоде у самок крыс контрольной группы были выявлены региональные различия в строении паренхимы ЩЖ, но в отличие от самцов в перифериче-

ских и центральной зонах долей у самок были статистически значимо большие размеры фолликулов и высота фолликулярных тироцитов (табл. 1). Существенных отличий в ультраструктуре тироцитов не наблюдалось.

В опытной группе самок наблюдалось типичное дольчатое строение ЩЖ с формированием зональности в долях. По сравнению с контролем у самок крыс отмечалось статистически значимое уменьшение размеров фолликулов в центральной зоне и тенденция к их уменьшению в периферических зонах долей ЩЖ, увеличение высоты фолликулярного эпителия и размеров их ядер в периферических зонах и снижение высоты фолликулярных тироцитов и уменьшение размеров их ядер а в центральной зоне, тогда как у самцов отмечались противоположные изменения (табл. 1). Уменьшение размеров фолликулов у самок не приводило к статистически значимому увеличению их числа в мм² площади среза (табл.1). В периферической зоне долей ЩЖ самок крыс опытной группы синтетические процессы в некоторых фолликулах происходили более активно, чем у контрольных животных, но в большинстве случаев наблюдалось относительное снижение процессов синтеза как ТГ, так и лизосомальных ферментов. Наблюдалась аутофагия как поврежденных, так и не измененных митохондрий. В центральной зоне долей отмечалось снижение синтетических процессов, процессов формирования лизосом и уменьшение внутриклеточного протеолиза ТГ.

Изменения тиреоидного статуса и экспрессии ключевых молекул, обеспечивающих йодирование тирозилов в фолликулярных тироцитах, у самок крыс в пубертатном периоде при воздействии эндокринного дисраптора ДДТ с первого дня постнатального онтогенеза

Отличия тиреоидного статуса самок крыс контрольной группы от самцов заключались в более высокой концентрации Т3 и сТ3 в сыворотке крови (табл.2).

Через 6 недель потребления ДДТ у самок отмечалось статистически значимое снижение концентрации Т4 на 10%, Т3 и сТ3 – на 14% и 17%, соответственно, по сравнению с контролем (табл. 2), но половые особенности тиреоидного статуса сохранялись. Также отмечалось более высокий уровень ТТГ, но содержание рецепторов ТТГ в системном кровотоке было меньшим.

В контрольной группе самок крыс региональные различия в экспрессии НИС были менее выражены, чем у самцов (рис. 1в,г). Концентрация НИС в сыворотке крови не имела гендерных различий (рис. 2б). Экспрессия ТПО, наоборот, отличалась у самок

большой выраженностью в центральной зоне долей (рис. 3в,г,) Концентрация ТПО в сыворотке крови была выше, чем у самцов (рис. 4).

В опытной группе у самок крыс наблюдалось снижение синтеза НИС, но было обусловлено уменьшением экспрессии НИС в центральной зоне долей, а не в периферической как у самцов (рисс. 1в,г, 2б). Синтез ТПО снижался в центральной и периферических зонах долей (рис. 3в,г), и, соответственно, уменьшалась его концентрация в сыворотке крови (рис. 4б) в отличие от самцов (рисс. 3а,б, 4а).

Морфологические изменения щитовидной железы и ультраструктуры фолликулярных тироцитов у самцов крыс в постпубертатном периоде при воздействии эндокринного дисраптора ДДТ с первого дня постнатального онтогенеза

В постпубертатном периоде у самцов крыс контрольной группы региональные различия в размерах фолликулов усилились, а в высоте фолликулярных тироцитов изменились на противоположные: высота тироцитов в центральных зонах долей стала больше, чем в периферических зонах (табл. 3). Электронно-микроскопические исследования показали, что в периферических зонах процессы резорбции ТГ преобладали над процессами синтеза, в центральной зоне процессы синтеза и резорбции были умеренно выражены и сбалансированы.

У крыс опытной группы наблюдались различные с контрольными животными возрастные изменения в структуре ЩЖ. По сравнению с 6-недельным возрастом было выявлено значительное уменьшение площади фолликулов в центральной зоне долей, увеличение процентного содержания эпителия и его высоты как в центральной, так и периферических зонах, что было связано с увеличением высоты фолликулярных тироцитов (табл. 3). Строение ЩЖ отличалось от контрольной группы 10-недельного возраста более крупными размерами фолликулов, клеток и их ядер в периферической и в центральной зонах долей. Увеличения числа фолликулов в единице площади паренхимы не происходило (табл. 3) в отличие от половозрелых особей, подвергавшихся в течение 10 недель воздействию аналогичных доз ДДТ [Яглов В.В. с соавт., 2014]. Выявлено выраженное усиление синтетической активности фолликулярных тироцитов, что приводило к массивной гибели эпителия и деструкции фолликулов в периферических зонах долей без реактивных воспалительных изменений.

Таблица 3.

Изменения морфометрических показателей щитовидной железы самцов и самок крыс, потреблявших ДДТ в низких дозах с рождения в течение 10 недель ($M \pm m$).

Группы Параметры	Самцы				Самки			
	Контрольная группа		Опытная группа		Контрольная группа		Опытная группа	
	Периферические зоны долей ЩЖ	Центральная зона долей ЩЖ	Периферические зоны долей ЩЖ	Центральная зона долей ЩЖ	Периферические зоны долей ЩЖ	Центральная зона долей ЩЖ	Периферические зоны долей ЩЖ	Центральная зона долей ЩЖ
Площадь срезов фолликулов, мкм^2	5404,95 $\pm 544,72$	2360,85 $\pm 156,58\#$	5659,67 $\pm 335,54$	3591,18 $\pm 268,27^\wedge$	6767,60 $\pm 698,80$	4161,56 $\pm 470,92\#^\wedge$	7391,24 $\pm 482,32^*$	3107,00 $\pm 109,44^*\#$
Содержание коллоида в полости фолликулов, %	81,48 $\pm 1,71\#$	82,24 $\pm 2,38$	85,00 $\pm 1,27\#$	86,17 $\pm 5,02\#$	84,56 $\pm 1,77^\wedge$	83,96 $\pm 1,50^*\#$	76,19 $\pm 1,28^*$	88,35 $\pm 1,30^*\#$
Высота фолликулярных тироцитов, мкм	8,91 $\pm 0,38\#$	10,35 $\pm 0,28\#$	10,03 $\pm 0,42\#$	9,66 $\pm 0,27\#$	11,50 $\pm 0,35^*\wedge$	9,18 $\pm 0,35^\wedge$	13,26 $\pm 0,27^*\#$	11,30 $\pm 0,21^*\#$
Площадь срезов ядер, мкм^2	21,83 $\pm 0,62\#$	21,23 $\pm 0,40\#$	23,68 $\pm 0,40\#^\wedge$	23,04 $\pm 0,34\#^\wedge$	27,56 $\pm 1,46^*\wedge$	22,67 $\pm 0,34\#^\wedge$	24,62 $\pm 0,23^*\#$	23,83 $\pm 0,22^*\#$
ИБ	1,98 $\pm 0,35$	0,97 $\pm 0,14\#$	1,62 $\pm 0,12$	1,38 $\pm 0,15^\wedge$	1,45 $\pm 0,32$	1,47 $\pm 0,34$	1,39 $\pm 0,08\#$	1,02 $\pm 0,11$
Количество фолликулов/ мм^2 среза	226,75 $\pm 52,75$		213,5 $\pm 20,18$		245,00 $\pm 27,53$		207,25 $\pm 5,63$	

Примечание. *- статистически значимые отличия от значений контрольной группы, #-статистически значимые отличия от значений предыдущего срока исследования, ^ – статистически значимые отличия значений группы самок от группы самцов.

Изменения тиреоидного статуса и экспрессии ключевых молекул, обеспечивающих йодирование тирозилов в фолликулярных тироцитах, у самцов крыс в постпубертатном периоде при воздействии эндокринного дисраптора ДДТ с первого дня постнатального онтогенеза

По сравнению с предыдущим сроком исследования у самцов крыс контрольной группы было отмечено статистически значимое увеличение уровня сТ4 и Т3 (табл.4). У самцов крыс опытной группы было отмечено статистически значимое снижение Т3 в среднем на 12 %, сТ3 на 13%, %сТ3 на 14% по сравнению с контрольной группой. Также отмечалось снижение уровня ТГ на 11% по сравнению с предыдущим сроком исследования и с контрольной группой на 14%, не выявлявшегося в экспериментах с половозрелыми особями, подвергавшимися аналогичному воздействию ДДТ [Яглова Н.В. с соавт., 2014]. Уровень ТТГ повысился, а содержание его рецепторов в системном кровотоке уменьшилось по сравнению с предыдущим сроком исследования, что связано с ингибированием его синтеза вследствие длительного повышения продукции ТТГ [de Lloyd A. et al., 2010].

Табл. 4.

Тиреоидный статус самцов и самок крыс, подвергавшихся длительному воздействию низких доз ДДТ в постнатальном развитии, и контрольной группы в постпубертатном периоде (M±m)

Показатели	Самцы		Самки	
	Контрольная группа	Опытная группа	Контрольная группа	Опытная группа
Т4, мкг/дл	2,25±0,16	2,36±0,16	2,28±0,17	2,13±0,19
сТ4, нг/дл	1,68±0,06#	1,66±0,03#	1,53±0,07	1,35±0,11^
Т3, нг/мл	1,07±0,06#	0,94±0,03*	0,83±0,01#^	0,78±0,05#^
сТ3, пг/мл	2,15±0,14	1,59±0,09*#	2,53±0,18	1,82±0,11*#
Тироглобулин, нг/мл	20,15±0,62	17,91±0,46*#	19,00±0,18#^	17,83±0,60*#
ТТГ, мкМЕ/мл	0,65±0,03	1,38±0,06*#	0,67±0,04	2,15±0,09*#^
Рецептор ТТГ, МЕ/л	2,17±0,12#	3,40±0,15*#	2,55±0,11	6,04±0,11*#^

Примечания: *- статистически значимые отличия от значений контрольной группы, #-статистически значимые отличия от значений предыдущего срока исследования.

После наступления половой зрелости у крыс контрольной группы региональные различия в экспрессии фолликулярными тироцитами НИС стали более выраженными из-за уменьшения синтеза НИС в центральной зоне долей (рис. 1а,б). Снижение концентрации НИС в системном кровотоке (рис. 2а) и реактивному повышению экспрессии ТПО фолликулярным эпителием (рисс. 3а, 4а).

У крыс, подвергавшихся воздействию низких доз ДДТ, изменения экспрессии НИС в периферических и центральных зонах долей ЩЖ имели аналогичный характер,

но уменьшение синтеза НИС в центральной зоне было более выраженным, что и обусловило более низкое его содержание в сыворотке крови (рисс. 1а,б, 2а). Таким образом, нормализации продукции НИС не наблюдалось в отличие от половозрелых самцов крыс, потреблявших аналогичные дозы ДДТ в течение 10 недель [Яглова Н.В. с соавт. 2013, 2014]. В центральной зоне происходило не увеличение, а уменьшение экспрессии ТПО. Но в целом, она была более высокой, чем в периферических зонах, то есть региональные особенности экспрессии не были нарушены. Концентрация ТПО в сыворотке крови не увеличивалась, что, вероятно, обусловлено гибелью части паренхимы.

Морфологические изменения щитовидной железы и ультраструктуры фолликулярных тироцитов у самок крыс в постпубертатном периоде при воздействии эндокринного дисраптора ДДТ с первого дня постнатального онтогенеза

В ЩЖ самок крыс контрольной группы по сравнению с предыдущим сроком исследования отмечалось уменьшение высоты фолликулярных эпителиоцитов как в центральной, так и в периферической зонах долей и увеличение размеров их ядер (табл. 3). В фолликулярных тироцитах периферической зоны отмечалось уменьшение площади, занимаемой ГЭПС, уменьшение количества секреторных гранул в апикальной части клеток и увеличение размеров комплекса Гольджи и количества лизосом, центральной зоны – отмечалось увеличение количества лизосом.

В опытной группе строение паренхимы долей ЩЖ не имело принципиальных отличий от контрольной группы: наблюдалось типичное дольчатое строение с формированием зональности в долях, количество фолликулов в мм² среза не отличалось. По сравнению с 6-недельным возрастом было выявлено небольшое увеличение площади фолликулов в периферической зоне и уменьшение в центральной. Отличием от контрольной группы были большие размеры фолликулов, а также высоты фолликулярных тироцитов и меньшие размеры их ядер, меньшее содержание коллоида в полости фолликулов в периферических зонах долей. В периферических зонах долей наблюдались признаки усиления функциональной активности клеток в виде увеличения их высоты и размеров ядер, приводящей к их гибели и разрушению фолликулов и целых долек, как и у самцов без лейкоцитарной инфильтрации железы. В дольках без деструкции фолликулов в фолликулярных тироцитах выявлены гипертрофия комплекса Гольджи, усиление формирования лизосом, усиление синтетических процессов, проявлявшееся расширением канальцев ГЭПС, отеком матрикса митохондрий и перинуклеарного пространства, по

сравнению, как с предыдущим сроком исследования, так и контрольной группой аналогичного возраста. В центральной зоне ЩЖ выявлены меньшие размеры фолликулов, увеличение процентного содержания коллоида, высоты и процентного содержания фолликулярного эпителия, размеров его ядер по сравнению с контролем. При изучении ультраструктуры выявлены активация трансмембранного транспорта ТГ, особенно его обратный захват путем макропиноцитоза удлинёнными микроворсинками, а также за счет образования на апикальной поверхности клеток крупных цитоплазматических выростов, значительно увеличивающих апикальную поверхность тироцитов, и усиление расщепления лизосомами резорбированного коллоида по сравнению с предыдущим сроком исследования.

Изменения тиреоидного статуса и экспрессии ключевых молекул, обеспечивающих йодирование тирозилов в фолликулярных тироцитах, у самок крыс в постпубертатном периоде при воздействии эндокринного дисраптора ДДТ с первого дня постнатального онтогенеза

По сравнению с предыдущим сроком исследования у самок крыс контрольной группы отмечалось статистически значимое снижение уровней ТЗ в среднем на 33% и ТГ на 3%. Этим они отличались от самцов, у которых, наоборот, отмечалось повышение ТЗ. В итоге тиреоидный статус самок крыс в постпубертатном периоде характеризовался более низкой концентрацией ТЗ и ТГ по сравнению с самцами аналогичного возраста (табл. 4).

У самок крыс опытной группы отмечалось снижение концентрации ТЗ как по сравнению с предыдущим сроком исследования в среднем на 28%, так по сравнению с контрольной группой на 8%. Также было выявлено снижение содержания сТЗ как по сравнению с контрольной группой на 28%, так и с предыдущим сроком на 21%. Концентрация ТГ снижалась на 8% как по сравнению с контрольной группой, так и по сравнению с предыдущим сроком. Содержание ТТГ и рецепторов ТТГ в сыворотке крови повысилось по сравнению с предыдущим сроком исследования и значительно превысило значения контрольной группы. Таким образом, тиреоидный статус самок крыс опытной группы отличался от такового у самцов более низким уровнем сТ4 и ТЗ, но более высоким уровнем сТЗ, ТТГ и рецепторов ТТГ (табл.4).

У самок контрольной группы в постпубертатном периоде уменьшение синтеза НИС происходило, как и у самцов в центральной зоне долей, но было более выражен-

ным. Экспрессия ТПО у самок уменьшалась после наступления полового созревания в отличие от самцов, у которых она усиливалась. Но региональные особенности экспрессии у самок были такими же, как и у самцов.

У самок, подвергавшихся воздействию низких доз ДДТ в течение 10 недель, синтез НИС уменьшался по сравнению с предыдущим сроком исследования, как и у самцов, не смотря на повышенный уровень рецепторов ТТГ и самого ТТГ, являющегося стимулятором экспрессии НИС [de Lloyd A. et al., 2010], но это было обусловлено изменениями в периферической, а не центральной зонах долей. Региональные различия в экспрессии НИС были менее выражены, а уменьшение концентрации НИС в системном кровотоке было значительно большим. Особенностью экспрессии ТПО у самок было ее усиление в периферических зонах долей. Однако повышения концентрации ТПО в сыворотке крови не наблюдалось из-за деструкции фолликулов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Воздействие низких доз эндокринного дисраптора ДДТ на развивающийся организм с первого дня постнатального онтогенеза вызывает изменения гистофизиологии ЩЖ, приводящие к снижению продукции тиреоидных гормонов и усилению секреции ТТГ и рецепторов ТТГ. Основными закономерностями действия ДДТ на щитовидную железу является снижение продукции НИС и ТПО, уменьшение количества лизосом в фолликулярных тироцитах при активном формировании секреторных гранул, что свидетельствует о нормальном функционировании комплекса Гольджи, а также нарушение транспорта ТГ через апикальную мембрану. Длительная стимуляция рецепторов ТТГ вызывает усиление синтетической активности фолликулярных тироцитов, приводящее к их гиперфункции и гибели, и является основным компенсаторным изменением гистофизиологии фолликулярного эпителия. При этом фолликулярные тироциты сохраняют регулируемый тип секреции. Увеличения количества фолликулов в единице объема ЩЖ, то есть перестройки паренхимы, не происходит, в отличие от взрослых особей, подвергавшихся воздействию ДДТ в течение того же срока (рис. 5). То есть фолликулярный эпителий крыс, подвергавшихся воздействию ДДТ с первого дня постнатального развития, обладает меньшей пластичностью и меньшим спектром компенсаторных реакций, обусловленных воздействием ТТГ.

Возрастные изменения гистофизиологии ЩЖ имеют отличия у крыс разного пола. У самцов и самок снижение продукции НИС фолликулярными тироцитами в пубер-

татном периоде имеет региональные различия. Нарушение транспорта ТГ отмечается у самцов в основном в периферических зонах долей, а у самок не выявляется. Уменьшение транспортных каналов йодидов вызывает у самцов более быстрое реактивное усиление синтеза ТПО. Более высокая синтетическая активность клеток у самцов наблюдается в центральных зонах долей, у самок – в периферических.

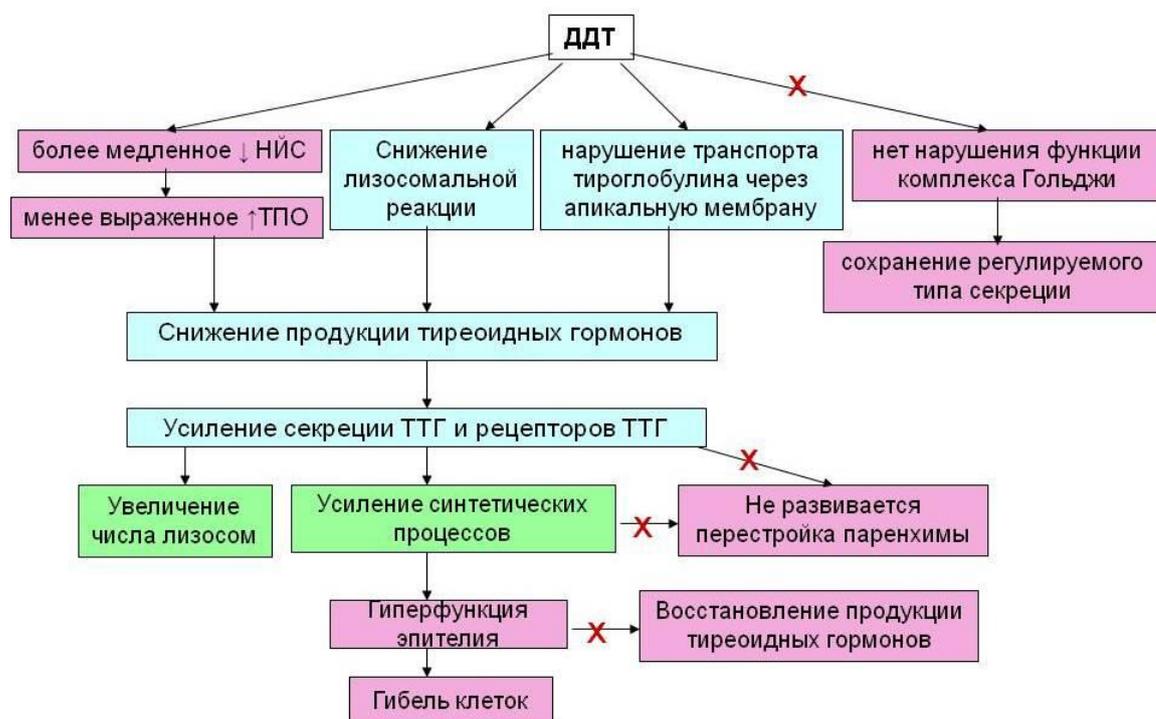


Рис. 5. Изменения гистофизиологии фолликулярного эпителия щитовидной железы крыс, подвергавшихся воздействию низких доз эндокринного дисраптора ДДТ с первого дня постнатального онтогенеза.

Примечания: в блоках розового цвета показаны особенности изменений гистофизиологии тироцитов развивающегося организма по сравнению с половозрелыми животными, подвергавшимися аналогичному по срокам и дозам воздействию ДДТ.

После наступления половой зрелости у самцов и самок снижение синтеза НИС продолжается и охватывает всю паренхиму ЩЖ. У самцов начинает уменьшаться синтез ТПО в фолликулярных тироцитах, а у самок, наоборот, – усиливаться. Активация транспорта ТГ через апикальную мембрану фолликулярных тироцитов имеет региональные отличия у самцов и самок, но выраженность морфологических изменений свидетельствует о большей степени активации этих процессов у самок. Значительное усиление синтетических процессов в эпителиоцитах приводит к их массовой гибели как у самцов, так и у самок.

Выводы:

1. Длительное воздействие низких доз эндокринного дисраптора ДДТ с первого дня постнатального онтогенеза вызывает изменения гистофизиологии фолликулярного эпителия щитовидной железы в пубертатном и постпубертатном периодах, приводящие к снижению продукции тиреоидных гормонов и связанные как с действием ДДТ, так и с нарушением развития реактивных и компенсаторных процессов. Последние обусловлены повышением уровня ТТГ и имеют особенности в зависимости от пола животных.
2. Воздействие низких доз ДДТ на самцов крыс вызывает в пубертатном периоде снижение синтеза натрий-йодного симпортера, нарушение транспорта тироглобулина через апикальную мембрану, особенно в периферических зонах долей, уменьшение формирования лизосом, преимущественно в центральной зоне долей, что приводит к увеличению размеров фолликулов щитовидной железы и вызывает снижение продукции тироксина. Реактивные изменения, обусловленные повышением секреции ТТГ и его рецепторов, развиваются преимущественно в центральной зоне долей и проявляются усилением синтетической активности фолликулярных тироцитов, в том числе и синтеза тиреопероксидазы.
3. Гистофизиологические изменения фолликулярного эпителия самок крыс в пубертатном периоде на фоне воздействия эндокринного дисраптора отличаются снижением экспрессии натрий-йодного симпортера в основном в центральной зоне долей, более активным транспортом тироглобулина через апикальную мембрану и менее активным течением синтетических процессов, что приводит к уменьшению размеров фолликулов в щитовидной железе, в отличие от самцов. Более выраженное снижение продукции тиреоидных гормонов у самок обусловлено отсутствием реактивного повышения экспрессии тиреопероксидазы в фолликулярном эпителии, несмотря на более высокую секрецию ТТГ и его рецепторов.
4. После достижения половой зрелости у самцов и самок крыс основным компенсаторным изменением гистофизиологии фолликулярного эпителия, обусловленным повышенной секрецией ТТГ на фоне продолжающегося воздействия дисраптора, являются восстановление баланса между фазами выделения, резорбции и протеолиза тироглобулина и усиление синтетической активности клеток, приводящее к их массивной гибели,

но не образование большего числа фолликулов в железе, что обуславливает пониженную продукцию тиреоидных гормонов.

5. Особенностью гистофизиологии фолликулярного эпителия самок в постпубертатном периоде является активация синтеза тиреопероксидазы, а также интенсификация эндоцитоза и экзоцитоза тироглобулина за счет формирования цитоплазматических выростов на апикальной поверхности клеток на фоне продолжающегося усиления секреции не только ТТГ, но и увеличения количества его рецепторов. Большая выраженность компенсаторных изменений по сравнению с самцами не приводит к увеличению продукции тиреоидных гормонов, что связано с меньшей экспрессией натрий-йодного симпортера тироцитами.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

Статьи в журналах, входящих в Перечень РФ рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук и ученой степени доктора наук

1. Яглова Н.В., Следнева Ю.П., Яглов В.В. Морфофункциональные изменения щитовидной железы крыс в пубертатном и постпубертатном периодах развития при воздействии низких доз дихлордифенилтрихлорэтана. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2016. – Т.162. – №8. – С.227-231.
2. Яглова Н.В. Следнева Ю.П., Яглов В.В. Влияние низких доз ДДТ на морфофункциональное состояние щитовидной железы в различные периоды постнатального онтогенеза. // Клиническая и экспериментальная морфология. – 2016. – №2(18). – С.53-59.
3. Следнева Ю.П. Половые различия морфофункциональных изменений щитовидной железы крыс при длительном воздействии низких доз ДДТ на ранних этапах постнатального развития. // Морфологические ведомости. – 2016. – №3(24). – С.41-52.
4. Следнева Ю.П., Яглова Н.В. Яглов В.В. Изменения ультраструктуры фолликулярных эпителиоцитов щитовидной железы крыс в пубертатном периоде, обусловленные длительным воздействием низких доз эндокринного дисраптора дихлордифенилтрихлорэтана. // Крымский журнал экспериментальной и клинической медицины. – 2016. – Т.6. – №3. – С.113-118.
5. Яглова Н.В., Следнева Ю.П., Назимова С.В. Изменения функциональной активности фолликулярных тироцитов крыс, подвергавшихся воздействию низких доз ДДТ с первых дней постнатального развития // Международный научно-исследовательский журнал . – 2016. – №12 (54). – С.125-130.
6. Яглова Н.В., Следнева Ю.П., Яглов В.В., Назимова С.В., Обернихин С.С. Ультраструктурные изменения фолликулярных тироцитов самок крыс, подвергавшихся длительному воздействию

низких доз ДДТ в постнатальном периоде онтогенеза. // Успехи современной науки и образования. – 2016. – Т.1.– №1. – С.40-45.

Другие публикации:

7. Следнева Ю.П. Изменения продукции тиреоидных гормонов у самцов крыс при длительном воздействии эндокринного дисраптора дихлордифенилтрихлорэтана на ранних этапах постнатального развития. // Материалы VI Международной научной конференции “Science for Health-2015: Клинические и теоретические аспекты современной медицины ” – Москва, 2015. – С.154-155.
8. Яглова Н.В, Следнева Ю.П., Яглов В.В. Половые различия тиреоидного статуса крыс при длительном воздействии низких доз дихлордифенилтрихлорэтана в постнатальном периоде. // Материалы IV Международной междисциплинарной конференции «Современные проблемы системной регуляции физиологических функций» – Москва, 2015. – С.725-728.
9. Следнева Ю.П., Яглова Н.В., Яглов В.В. Морфофункциональные изменения щитовидной железы крыс в пубертатном и постпубертатном периодах при воздействии низких доз ДДТ. // Сборник научных трудов научной конференции с международным участием «Актуальные вопросы морфогенеза в норме и патологии» – Москва, 2016. – С.164-165.
10. Следнева Ю.П., Яглова Н.В., Назимова С.В., Обернихин С.С. Изменения экспрессии натрий-йодного симпортера и тиреопероксидазы у самок крыс, подвергавшихся воздействию эндокринного дисраптора дихлордифенилтрихлорэтана в постнатальном периоде онтогенеза // Тезисы Международной научной конференции «Медицина и здравоохранение -2016». Москва, 24-25 декабря 2016г. – С.16-20.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ВОЗ – Всемирная организация здравоохранения

ДДТ – дихлордифенилтрихлорэтан

ИБ – индекс Брауна

НЙС – натрий-йодный симпортер

Т3 – трийодтиронин

Т4 – тироксин

ТГ – тироглобулин

ТПО – тиреопероксидаза

ТТГ – тиреотропный гормон

ЩЖ – щитовидная железа