

ХАРАКТЕРИСТИКА Фолликулярных тироцитов щитовидной железы при различных режимах двигательной активности

Безденежных А.В.¹, Радаев А.А.¹, Федотов В.Д.^{1,3}, Мирошниченко В.В.²

¹ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет» Минздрава России, Нижний Новгород, e-mail: natom311@gmail.com;

²ГБУЗ НО «Городская больница № 33», городской эндокринологический центр, Нижний Новгород, e-mail: ckjyjufl48@yandex.ru

³ФБУН НИИ ГИП Роспотребнадзора, Нижний Новгород, e-mail: basil11@yandex.ru

Заболевания щитовидной железы в Нижегородской области занимают второе место (27,32%) среди болезней эндокринной системы, расстройств питания и нарушения обмена веществ. Традиционно одним из морфологических критериев, позволяющих оценить функциональное состояние щитовидной железы, является высота фолликулярного эпителия. Целью работы было оценить размер фолликулярных тироцитов поперечных срезов правой доли щитовидной железы под влиянием различных режимов двигательной активности. Исследовались животные в интактной группе (16 собак-самцов) и в эксперименте (67 животных), у которых в результате индивидуально дозированной двигательной активности во время однократных и многократных тренировок (бег на ленте тредмила) формировалось различное морфофункциональное состояние органа. В результате измерения высоты фолликулярных тироцитов на всей поверхности среза (от 3888 до 8562 клеток в различных группах) выявлены достоверные межгрупповые отличия среднего значения признака. Для контрольной группы животных значимыми являлись метеорологические факторы (продолжительность светового дня, среднесуточная температура). Так, отличия высоты фолликулярного эпителия для летней ($5,00 \pm 0,01$ мкм) и зимней ($5,71 \pm 0,01$ мкм) подгрупп были достоверны ($p=0,003$). Использование различных режимов бега нивелировало сезонные влияния. Информационный анализ выявил изменения энтропии, организации, избыточности системы. На выраженность этих параметров влияли количество повторений нагрузок и продолжительность бега.

Ключевые слова: щитовидная железа, тироциты, высота фолликулярного эпителия, двигательная активность, мышечные нагрузки.

CHARACTERISTIC OF FOLLICULAR THYROCYTES OF THE THYROID GLAND IN VARIOUS MODES OF MOTOR ACTIVITY

Bezdenezhnykh A.V.¹, Radayev A.A.¹, Fedotov V.D.^{1,3}, Miroshnichenko V.V.²

¹FSBEI HE «Privolzhsky Research Medical University» MOH Russia, Nizhny Novgorod, e-mail: natom311@gmail.com;

²FBIHC NNR «City Hospital № 33», city endocrinology center, Nizhny Novgorod, e-mail: ckjyjufl48@yandex.ru;

³FBSI «Nizhny Novgorod research institute for hygiene and occupational pathology» Rospotrebnadzor, Nizhny Novgorod, e-mail: basil11@yandex.ru

Diseases of the thyroid gland in the Nizhny Novgorod region occupy the second place 27.32% among the "endocrine system diseases, eating disorders and metabolic disorders". Traditionally, one of the morphological criteria allowing to assess the functional state of the thyroid gland is the height of the follicular epithelium. The aim of the study was to estimate the size of follicular thyrocytes of transverse sections of the right lobe of the thyroid under the influence of various regimes of motor activity. Animals were studied in an intact group (16 male dogs) and experiment (67 animals), which, as a result of individually dosed motion activity during single and multiple training (running on the treadmill tape), formed a different morphofunctional state of the organ. As a result of measuring the height of follicular thyrocytes on the entire surface of the section (from 3888 to 8562 cells in different groups), significant intergroup differences in the mean value of the trait were found. Meteorological factors (daytime duration, mean daily temperature) were significant for the control group of animals. Thus, the differences between the height of the follicular epithelium for summer 5.00 ± 0.01 μm and winter 5.71 ± 0.01 μm subgroups were significant ($p = 0.003$). The use of different running modes levelled seasonal influences. Information analysis revealed changes in entropy, organization, redundancy of the system, the intensity of these parameters was influenced by the number of repetitions of loads and the running duration.

Keywords: thyroid gland, thyrocytes, height of follicular epithelium, motor activity, muscular load.

(ЩЖ) занимают второе место в мире, в РФ распространенность заболеваний ЩЖ по разным регионам составляет от 15 до 40% [1]. По данным Министерства здравоохранения Нижегородской области за 2017 год «болезни эндокринной системы, расстройства питания и нарушения обмена веществ» были диагностированы у 8938,4 человек на 100 000 населения, при этом заболевания ЩЖ составляют 27,32%, а в период с 2014 по 2017 гг. выявлена тенденция к росту заболеваемости на 28,12%. Диагностика функциональной активности ЩЖ чаще всего ставится на основании гормонального статуса [2]. Морфологическими критериями состояния ЩЖ служат показатели размеров и объема (по данным ультразвукового исследования), высоты и площади тироцита, данные кариометрии (в том числе при тонкоигольной аспирационной биопсии) [3]. Функциональной единицей железы является фолликул. Характеристика тироцитов, формирующих его стенку, отражает процессы синтеза и секреции гормонов [4]. Измерение высоты фолликулярного эпителия (ВФЭ) традиционно (Быков В.Л., 1979, Löw O., 1982) считается достоверным критерием активности тироцитов фолликулов ЩЖ наряду с такими показателями, как площадь клетки, площадь ядра, ядерно-цитоплазматическое соотношение [5, 6]. Естественным природным фактором, моделирующим функциональное состояние ЩЖ, является двигательная активность. Работы, посвященные исследованию ВФЭ при мышечной деятельности, немногочисленны [7, 8].

Цель исследования – на основании оптимального количества измерений фолликулярных тироцитов оценить влияние на них различных режимов двигательной активности.

Материалы и методы

Животные (собаки-самцы возраста от 1,5 до 2 лет) содержались в виварии на стандартном рационе питания сроком не менее 1 месяца, при этом фиксировались продолжительность светового дня, температура окружающей среды. Исследования на животных проведены в соответствии с приказами Минвуза СССР № 742 от 13.11.1984 «Об утверждении правил проведения работ с использованием экспериментальных животных» и № 48 от 23.01.1985 «О контроле за проведением работ с использованием экспериментальных животных». Взятие материала осуществляли под внутривенным общим комбинированным наркозом (2% ромитар, «золетил-50») в стандартное время суток – 10–12 часов.

Контрольная группа представлена 16 животными. Экспериментальные группы получали однократные и многократные нагрузки (бег на ленте тредмила со скоростью 15 км/час) при динамическом контроле частоты сердечных сокращений (ЧСС). Однократные нагрузки представлены тремя видами воздействий: тренирующего характера – 8 животных, время бега $27,76 \pm 4,67$ мин; стартового характера – 11 собак, время бега $8,25 \pm 0,73$ мин;

предельными нагрузками – 12 животных, время бега $73,14 \pm 14,97$ мин. Многократные воздействия были в виде циклов тренировок, каждый из которых состоял из тренирующих (первый этап) и стартовых нагрузок (второй этап), и представлены тремя группами. Первая группа (12 животных) – общее количество нагрузок $23,25 \pm 0,66$ – после первого этапа тренирующих индивидуально дозированных двигательных нагрузок (ИДДН) (время бега $45,64 \pm 1,83$ мин) получала воздействия стартового характера (время бега $11,81 \pm 0,38$ мин). Во второй группе (10 собак) – общее количество нагрузок $55,50 \pm 2,45$ – тренирующими нагрузками и стартовыми ИДДН последовательно моделировали три цикла воздействий – время бега $64,02 \pm 3,4$ мин (при стартовых нагрузках среднее время $10,4 \pm 0,27$ мин). В третьей группе у 11 животных формировали четыре цикла (общее количество нагрузок $70,54 \pm 2,52$), время бега составило $71,3 \pm 2,56$ мин (среднее время бега при стартовых нагрузках $9,85 \pm 0,25$ мин).

Измерения проводили на гистологических препаратах серийных поперечных срезов парафин-целлоидиновых блоков (фиксатор – 10%-ный нейтральный формалин) толщиной 3 мкм, изготовленных с помощью роторного микротомы (ERM-230L) из правой доли ЩЖ, после иммуногистохимической окраски ядерного антигена пролиферирующих клеток (PCNA, клон G1), визуализации и с последующей докраской ядер гематоксилином Майера. Захват кадров (микроскоп «Leika DMLS», камера «CCB Camera DIGITAL Kocom») и последующие измерения проводили в 40 полях зрения (общее увеличение 600) при зигзагообразном перемещении по всей поверхности среза (не менее 400 тироцитов). В программе ImageJ после геометрической калибровки измеряли высоту тироцитов (ВФЭ, Нер, мкм). Общее количество измерений составило 41 718 клеток. Все анализируемые фолликулярные тироциты каждой из групп могут быть объединены в две подгруппы: «единичные» – случайно выбранные клетки, расположенные в разных фолликулах или если их количество в стенке одного фолликула было менее 5, и «фолликулярные» – расположенные в стенке одного фолликула. В программе «AnalystSoft Inc., StatPlus, версия б», получали данные описательной статистики, оценивали нормальность распределения, для сравнения показателей использовали t-критерий Стьюдента и F-критерий Фишера. Информационный анализ (Леонтьев А.С., Леонтьев Л.А., Сыкало А.И., 1981) осуществляли с помощью программного обеспечения «AtteStat © И.П. Гайдышев, 2002–2012».

Результаты и их обсуждение

Данные о сравнении показателей высоты тироцитов, расположенных случайным образом («единичные») и измеренных в стенке одного фолликула («фолликулярные») у различных подгрупп животных, представлены в таблице 1.

Среднее значение высоты тироцитов разных подгрупп ($\bar{X} \pm S\bar{x}$)

	Показатель \ Группа	Число измерений, ед.	«Единичные» тироциты, мкм	Число измерений, ед.	«Фолликулярные» тироциты, мкм	Разница значений, Δ мкм
	Контроль (n=16)	2440	5,38±0,05	971	5,39±0,04	0,07
Однократные нагрузки	Тренирующие (n=8)	1283	5,42±0,03	429	5,49±0,04	0,08
	Стартовые (n=12)	1972	5,40±0,03	636	5,46±0,04	0,06
	Предельные (n=14)	2058	5,23±0,04	768	5,23±0,04	0,06
Многократные нагрузки	Многократные 1 (n=12)	2269	5,57±0,03	618	5,62±0,05	0,08
	Многократные 2 (n=10)	1908	5,34±0,03	483	5,35±0,03	0,06
	Многократные 3 (n=11)	2074	5,29±0,03	575	5,35±0,03	0,07

Следует констатировать, что для всех групп животных стандартное отклонение ВФЭ тироцитов в стенке одного фолликула было меньше, чем у случайно измеренных тироцитов. При этом дисперсия выборки последних всегда превышала значения «фолликулярных» тироцитов. В контрольной группе животных в 75% случаев высота «единичных» тироцитов была ниже, чем у «фолликулярных», при тренирующих и стартовых воздействиях она была ниже в 100%, при предельных нагрузках – в 50%, в группе «Многократные 1» – в 25%, «Многократные 2» – в 40% и «Многократные 3» – в 100% меньше, чем у фолликулярных. Разница значений показателей у отдельных животных во всех группах была незначительна.

Таким образом, при случайном перемещении по всей поверхности среза не имеет принципиального значения, где проводятся измерения фолликулярных тироцитов – в пределах одного фолликула или различных; необходимо лишь, чтобы общее количество измерений было достаточным. Исходя из числа измерений от 3888 до 8562 и среднего квадратичного отклонения (0,57 и 0,75 соответственно) для уровня надежности в 95% минимальное количество измерений составляло от 350 до 368 клеток для разных групп животных.

Метеорологические факторы (продолжительность светового дня, среднесуточная температура) являлись значимыми для контрольной группы животных. Средняя высота фолликулярного эпителия интактной группы достоверно отличалась ($p=0,003$) для летней ($5,00 \pm 0,01$ мкм) и зимней ($5,71 \pm 0,01$ мкм) подгрупп. В экспериментальных группах эти различия менее выражены. Так, в группе «Предельные» ВФЭ в летний период ($n=8$) составила $5,39 \pm 0,01$, а зимой ($n=5$) – $5,05 \pm 0,01$ ($p < 0,01$).

При мышечной деятельности высота тироцитов (контроль $5,37 \pm 0,01$, $n=8562$, здесь n – число измерений) увеличивалась под влиянием однократных тренирующих ($5,47 \pm 0,01$, $n=3888$) и стартовых ($5,44 \pm 0,01$, $n=5922$) нагрузок, однако бег «до отказа» (предельные нагрузки) характеризовался самой низкой ВФЭ ($5,19 \pm 0,01$, $n=6917$) среди исследуемых групп. При длительном беге отдельно следует рассматривать группу «Многократные 1». В этой экспериментальной группе увеличение ВФЭ максимально ($5,52 \pm 0,01$, $n=5984$). Длительный бег приводил к уменьшению высоты фолликулярных клеток ($5,33 \pm 0,01$, $n=4899$ и $5,35 \pm 0,01$, $n=4899$) в группах «Многократные 2» и «Многократные 3» соответственно. Однофакторный дисперсионный анализ выявил достоверные влияния двигательной активности на ВФЭ (все группы статистически достоверно отличаются от контроля, кроме группы «Многократные 3» по критерию Фишера с учетом эффекта множественных сравнений).

Информационный анализ ВФЭ (табл. 2) показал, что группа контроля обладала самой высокой энтропией (H , *бит* – 2,54), при этом показатели зимней и летних подгрупп отличались (2,43 и 2,26 соответственно). Энтропия снижалась у животных, получавших тренирующие ИДДН (2,23), и вновь возрастала при использовании стартовых нагрузок (2,53). В свою очередь в группе с бегом «до отказа» (предельные нагрузки) энтропия (2,39) существенно ниже, чем в группе контроля. Интересна динамика показателя и в отношении многократных нагрузок. Так, энтропия группы животных «Многократные 1» по сравнению с тренирующими нагрузками существенно возрастает (2,67) и сопоставима с показателями однократных стартовых воздействий. Многократные ИДДН (группы «Многократные 2 и 3») значительно снижали энтропию системы (2,24 и 2,23 соответственно), приближая их показатели к значениям однократного тренирующего воздействия.

Критерий, обратный энтропии, – организация (O , *бит*) показал, что понижение энтропии приводило к максимальной организации системы при однократных воздействиях (1,05 в контроле и 1,35 при тренирующих нагрузках). Стартовые нагрузки вызывали снижение организации, приближая ее к показателям интактной группы (1,05), а «предельные» увеличивали организацию ВФЭ (1,19). Максимальных своих значений организация достигла в группе «Многократные 3» (1,36) у животных с самым большим числом нагрузок. Стартовые воздействия «Многократные 1» характеризуются наиболее выраженным снижением организации системы фолликулярных клеток железы (0,91).

Относительная энтропия (h) – показатель степени использования информационной емкости системы, максимален в группе контроля (0,71). По нашему мнению, это отражает отсутствие детерминирующего фактора (бег на ленте тредмила), определяющего поведение системы. Следует отметить, что более высокие значения h характеризовали зимнюю

подгруппу животных (0,68), а меньшие – летнюю (0,65). Однократные кратковременные стартовые нагрузки не отличались от показателей контроля (0,71) и были сопоставимы с подобными воздействиями на фоне цикла тренирующих ИДДН («Многократные 1» – 0,75). Относительная энтропия уменьшалась при тренирующих нагрузках (0,62), а степени использования информационной емкости системы в группе «предельные» (0,67) и при многократных длительных нагрузках (группы 2 – 0,63 и 3 – 0,62) сопоставимы.

Наибольшим процентам избыточности (R , %), обеспечивающим надежность функционирования системы, соответствовали животные групп с длительным бегом «Многократные 2 и 3» (37,50 и 37,88) и животные с тренирующими ИДДН (37,72). Наименьшей надежностью (наибольшей «свободой» функционирования системы) характеризовалась группа контроля (29,26), причем в летний период (36,86, зимой – 32,16) этот показатель надежности максимален и сопоставим с эффектом, оказываемым однократными стартовыми нагрузками (29,35) и нагрузками группы «Многократные 1», где он самый низкий среди экспериментальных групп (25,40).

Таблица 2

Данные информационного анализа

Группы		Энтропия, <i>H</i> , бит	Организация, <i>O</i> , бит	Относительная энтропия (<i>h</i>)	Избыточность, <i>R</i> , %
Контроль (n=16)		2,54	1,05	0,71	29,26
Однократные нагрузки	Тренирующие (n=8)	2,23	1,35	0,62	37,72
	Стартовые (n=12)	2,53	1,05	0,71	29,35
	Предельные (n=14)	2,39	1,19	0,67	33,24
Многократные нагрузки	Многократные 1 (n=12)	2,67	0,91	0,75	25,40
	Многократные 2 (n=10)	2,24	1,34	0,63	37,50
	Многократные 3 (n=11)	2,23	1,36	0,62	37,88

Заключение

Высота тироцитов под влиянием однократных тренирующих и стартовых нагрузок увеличивалась, что отражало функциональное напряжение органа даже в ответ на непродолжительное по времени бега $8,25 \pm 0,73$ мин воздействие. Наоборот, бег «до отказа» (предельные нагрузки) приводил к исчерпанию функционального резерва срочной

адаптационной реакции, и ВФЭ была самой низкой среди исследуемых групп. При длительном беге отдельно следует рассматривать группу «Множкратные 1», в которой животные после цикла тренирующих ИДДН получали нагрузки стартового характера. В этой экспериментальной группе увеличение ВФЭ максимально. В группах «Множкратные 2 и 3» мы видим умеренное уменьшение высоты фолликулярных клеток и достижение оптимума синтеза тиреоидных гормонов в обеспечении долговременной адаптации.

Несмотря на большой объем измерений, мы не смогли своим исследованием подтвердить положение об интрафолликулярной гетероморфии [9], возможной причиной является то, что исследование проводилось только на светооптическом уровне.

По данным информационного анализа динамика ВФЭ сходна с изменением состояния регуляторного звена (парафолликулярных клеток, С-клеток) [10]. Тем самым подтверждаются роль и участие С-клеток в изменении функциональной активности прилежащих к ним фолликулярных тироцитов [11], а сама динамика изменения фолликулярной активности является мозаичной (на всей поверхности среза) [7] и зависит от параметров экспериментального воздействия. Однократные ИДДН имеют детерминирующий характер воздействия на систему фолликулярных тироцитов, уменьшая энтропию, что характерно для тренирующих и предельных нагрузок. Стартовые нагрузки (однократные и множкратные) носят дезинтегрирующий характер воздействия. Группы «Множкратные 2 и 3» (большое число нагрузок) имеют сходные значения, а незначительные колебания показателей информационного анализа коррелируют с нашими представлениями о волнообразном течении адаптационного процесса при двигательной активности [12].

Выводы

Большой объем выполненных измерений в пределах одного фолликула ($n=4480$), а также единичных клеток разных фолликулов ($n=14\ 004$) не выявил статистически достоверных различий «фолликулярных» и «единичных» тироцитов. Таким образом, измерения 400 клеток, выбранных произвольно, позволяют достоверно судить о функциональном состоянии типичных тироцитов.

Мышечные нагрузки (бег на ленте тредмила со скоростью 15 км/час) оказывают системное влияние на организм и щитовидную железу, что находит отражение в изменениях морфологического маркера функциональной активности органа – высоте фолликулярных тироцитов. Фактор двигательной активности является более значимым параметром воздействия, чем сезонные влияния.

Информационный анализ подтвердил, что двигательная нагрузка является детерминирующим фактором воздействия на систему фолликулярных тироцитов, а различная продолжительность и повторяемость определяют выраженность этих влияний.

Список литературы

1. Влияние экологических факторов на структуру заболеваний щитовидной железы в Удмуртии / С.Н. Стяжкина [и др.] // Научный альманах. – 2015. – № 11-4(13). – С. 149–154.
2. Российские клинические рекомендации. Эндокринология // Под ред. И.И. Дедова, Г.А. Мельниченко. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2018. – 592 с.
3. Хмельницкая Н.М. Комплексная клинико-морфологическая диагностика заболеваний щитовидной железы / Н.М. Хмельницкая, Н.Ю. Орлинская. – СПб. – Нижний Новгород: ООО «Ремедиум-Приволжье», 2014. – 180 с.
4. Barrett, E.J. The Thyroid Gland // Medical Physiology. 3rd Edition. Chapter 49 / ed. W.F. Boron, E.L. Boulpaep, 2016. – P. 1006–1017.
5. Хмельницкий О.К. Цитологическая и гистологическая диагностика заболеваний щитовидной железы: Руководство. – СПб.: Сотис, 2002. – 288 с.
6. Ali Rajab N.M., Ukropina M., Cakic-Milosevic M. Histological and ultrastructural alterations of rat thyroid gland after short-term treatment with high doses of thyroid hormones // Saudi J. Biol. Sci. 2017. – V. 24. – № 6. – P. 1117–1125.
7. Безденежных А.В. Исследование очаговой активности щитовидной железы при физических нагрузках на основе измерения высоты фолликулярного эпителия // Аспекты адаптации. Критерии индивидуальных адаптаций. Закономерности и управление: Сб. научн. трудов // Под. ред. проф. А.Г. Кочеткова. – Н. Новгород: Изд-во НГМА, 2001. – С. 141–151.
8. Криштоп В.В. Сравнительная морфофункциональная характеристика щитовидной железы в условиях динамической и статической физических нагрузок // Морфология. – 2007. – Т. 131, № 1. – С. 49–53.
9. Быков В.Л. Гетерогенность и гетероморфия щитовидной железы / В.Л. Быков // Морфология. – 2004. – Т. 129, № 4. – С. 27.
10. Безденежных А.В. Информационный анализ организации парафолликулярных эндокриноцитов собак при индивидуально дозированных двигательных нагрузках // Морфология. – 2008. – Т. 133, № 4. – С. 59.
11. Chapter 75 – Thyroid Regulatory Factors / J.L. Jameson, L.J. De Groot, D.M. de Kretser, et al. // Endocrinology: Adult and Pediatric. – Elsevier Health Sciences, 2016. – P. 1297–1321.
12. Бирюкова О.В. Работоспособность при двигательных нагрузках и гипокинезии: монография / О.В. Бирюкова, И.Г. Стельникова. – Н. Новгород: НижГМА, 2011. – 176 с.