

## Теоретична і експериментальна медицина

УДК 612.44.014:616.441

## ДИНАМІКА РОЗПОДІЛУ ТА СТРУКТУРНО-ФУНКЦІОНАЛЬНОГО СТАНУ МАСТОЦИТІВ У ЩИТОПОДІБНІЙ ЗАЛОЗІ ПОТОМСТВА ЩУРІВ В НОРМІ ТА ЗА УМОВ ПРЕНАТАЛЬНОЇ ДІЇ СТАФІЛОКОКОВОГО АНАТОКСИНУ

**Федосєєва О.В.***Запорізький державний медичний університет, Запоріжжя, Україна*

У результаті дослідження встановлено, що внаслідок пренатальної дії антигену (стафілококового анатоксину) на організм постнатально на ранніх етапах розвитку у щитоподібній залозі спостерігається певний баланс між процесами міграції, розподілу, дегрануляції мастоцитів та проліферативними процесами паренхіми, строми залози та формуванням лімфоїдної тканини у щитоподібній залозі у різні строки спостереження. У щитоподібній залозі в ході морфогенетичних процесів при появі нових фолікулів, і внутрішньоклітинної регенерації, популяція мастоцитів реагує активно дегрануляцією, з викидом в міжклітинний простір біологічно-активних речовин, які мають модулюючий вплив на компоненти щитоподібної залози, забезпечуючи підтримку порушеного гомеостазу і стимулюючи відновлювальні процеси.

**Ключові слова:** щитоподібна залоза, антиген, стафілококовий анатоксин, мастоцити, експеримент, щури.



**Цитуйте українською:** Федосєєва ОВ. Динаміка розподілу та структурно-функціонального стану мастоцитів у щитоподібній залозі потомства щурів в нормі та за умов пренатальної дії стафілококового анатоксину. Експериментальна і клінічна медицина, 2021;90(1):5-12. <https://doi.org/10.35339/ekm.2021.90.1.fov>

**Cite in English:** Fedosieieva OV. Dynamics of distribution and structural-functional features of mast cells in the thyroid gland of rat's offspring in the norm and after penatal exposue of staphylococcal toxoid. Experimental and Clinical Medicine, 2021;90(1):5-12. <https://doi.org/10.35339/ekm.2021.90.1.fov> [in Ukrainian].

**Вступ**

Широке розповсюдження стафілококів на тлі фізіологічного зниження імунітету вагітної жінки нерідко призводить до захворювань, які викликані даною бактерією. Особливу увагу в цьому питанні привертає до себе вплив різноманітних чинників на організм вагітної, тобто пренатальна неспецифічна дія зовнішніх інфекційних антигенів на

організм, які б мали віддалені прояви після народження [1; 2]. Антигенне навантаження у критичні терміни онтогенезу може викликати значні «поломки» в імунній системі дитини [2]. Наслідком перенесених інфекцій може бути ініціація морфологічних змін органів та забар'єрних структур, тобто ці інфекції можуть не призводити до стійких змін структури, а тільки залишати постійний

імунологічний «фон» в органі та організмі в цілому, який при впливі різних чинників може у подальшому ініціювати патологічні стани [1; 3].

Уявлення про роль мастоцитів у організмі зазвичай зводиться до їх участі в реакціях, пов'язаних з дією гістаміну і серотоніну, біогенних амінів, які накопичуються в гранулах тучних клітин і секретуються при імунній відповіді. Завдяки секреції гістаміну мастоцити регулюють проникність судин, беруть участь в підтримці гомеостазу в ході обміну речовин [4; 5]. Мастоцити беруть участь в процесах пухлинного росту, а також у розвитку багатьох запальних і аутоімунних захворювань [6; 7].

Вважається, що продукція інтерлейкіну-9 регуляторними Т-клітинами значно сприяє рекрутуванню й активізації мастоцитів в толерантних тканинах [8]. Крім цього, мастоцити беруть участь в регенераторних процесах, викликаючи фіброз тканини, пригнічуючи проліферацію фібробластів і посилюючи їх дозрівання, а також продукцію колагену. Мастоцити є клітинами-продуцентами факторів росту нових капілярів, беручи участь в ангиогенезі, а також вони продукують фактори, які примаюють лімфоцити, моноцити, макрофаги, нейтрофіли, тромбоцити та еозинофіли [4; 5; 8]. Крім того, мастоцити несуть головний комплекс гістосумісності (англ. *major histocompatibility complex, MHC*) обох класів, і завдяки наявності MHC класу II і CD86 вони функціонують як антигенпрезентуючі клітини, особливо щодо Th2-клітин [9].

Метою дослідження було вивчення у щитоподібній залозі щурів кількісного та функціонального стану мастоцитів, особливостей їх локалізації у віковому аспекті раннього постнатального періоду онтогенезу в нормі та після пренатального впливу стафілококового анатоксину на плід.

## Матеріали та методи

Матеріалом дослідження були щитоподібні залози щурів лінії Вістар у віці від 3 до 30 доби постнатального розвитку (108 тварин), які були розподілені на групи по 6 тварин у кожній. Досліджено три групи тварин на 3-тю, 7-му, 11-ту, 14-ту, 21-шу, 30-ту добу постнатального періоду життя: I гр. – інтактні тварини (норма); II гр. – контрольна, тваринам якої вводили 0,9 % розчин NaCl на 18-ту добу датованої вагітності; III – експериментальні тварини, яким вводили стафілококовий анатоксин рідкий очищений адсорбований (10-14 одиниць зв'язування у 1 мл, розведений у 10 разів) в дозі 0,05 мл. Введення плодам стафілококового анатоксину та 0,9 % розчину NaCl здійснювалось оперативно під час лапаротомії, шляхом кризьматкової, кризьоболонкової підшкірної ін'єкції у міжлопаткову ділянку в дозі 0,05 мл кожному плоду.

Утримання, догляд за тваринами та всі маніпуляції проводили відповідно до положень «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1985), Гельсінської декларації Генеральної асамблеї Всесвітньої медичної асоціації (2000), «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001), Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (від 21.02.2006 № 3447-IV, редакція від 09.12.2015).

Комплекс щитоподібної залози з ділянкою трахеї фіксували в 10 % розчині нейтрального забуференого формаліну протягом доби. Об'єкти заливали у парафінові блоки загальноприйнятим методом. Гістологічні зрізи товщиною 4 мкм забарвлювали гематоксином і еозином (для оглядової світлової мікроскопії та азуром II і еозином.

Щільність розташування гранул у мастоцитах визначали за допомогою мікроскопа "Primo Star" (Carl Zeiss, Німеччина) при збільшенні у 400 разів. Підрахунок клітин проводили у 20 полях зору з перерахунком на одиницю площі ( $S=1 \text{ мм}^2$ ). Для зручності трактування, узагальнення та екстраполяції одержаних результатів дослідження тварин відповідних строків життя групували за віковою періодизацією (табл. 1).

Морфометрію та фотодокументацію досліджуваних об'єктів виконано з використанням мікроскопу "Primo Star"

Всі результати досліджень фіксувалися в журналах та протоколах первинної документації, а також з використанням електронних носіїв інформації. Гіпотезу про нормальність розподілу досліджуваних показників перевіряли з використанням критерію Шапіро–Уїлка. Обчислювали медіану, нижній та верхній квартилі, дані представляли у вигляді  $Me (Q1; Q3)$ . Достовірність відмінностей між середніми оцінювали за допомогою параметричного t-критерію Ст'юдента при нормальному розподілі та вважали статистично значущою при рівні

Таблиця 1. Розподіл досліджуваного матеріалу за віковою періодизацією (Махінко В.І., Нікітін В.М., 1975) [10]

Періоди життя щурів	Вік, доба
Молочного вигодовування:	
- новонароджений (ранній молочний)	1–5
- підсисний (середній молочний)	6–21
Статевого дозрівання (статевонезрілі):	
- інфантильний (пізній молочний)	22–50

(Carl Zeiss, Німеччина) з використанням камери AxioCam, комплекс морфометричних досліджень виконувався за допомогою програми Zeiss Zen (2011).

Статистичний аналіз отриманих результатів проводили за допомогою персонального комп'ютера на базі операційної системи Windows XP за допомогою статистичного пакету «Statistica for Windows 6.0» (StatSoftInc.), програма Excel (Microsoft Office, USA).

достовірності не менш ніж 95 % [11]. Для всіх видів аналізу відмінності вважали достовірними при  $p<0,05$ .

#### Результати та їх обговорення

Мастоцити строми щитоподібної залози тварин інтактної та контрольної груп розташовувалися уздовж судин, у складі сполучнотканинних прошарків, між фолікулами та капсулою залози. Дані у цих досліджуваних групах достовірно не різнилися між собою (табл. 2).

Таблиця 2. Розподіл мастоцитів у щитоподібній залозі щурів раннього постнатального онтогенезу в досліджуваних групах на  $1 \text{ мм}^2$ ,  $Me (Q1; Q3)$

	Ранній молочний період	Середній молочний період	Пізній молочний період
I група	43,91 (20,67; 65,84)	43,04 (22,85; 62,79)	36,71* (23,61; 48,76)
II група	44,87 (21,08; 67,26)	42,73 (24,38; 65,72)	37,53* (22,08; 49,83)
III група	36,32** (18,24; 53,41)	71,92* ** (54,13; 83,25)	112,20* ** (84,06; 124,19)

Примітка: \* – різниця з попереднім терміном дослідження достовірна ( $p<0,05$ );

\*\* – різниця з контролем достовірна ( $p<0,05$ ).

Форма і розміри клітин варіювали від веретеноподібної до округлої. Основна частина клітинного пулу була представлена мастоцитами овальної форми, великих розмірів, з добре вираженими гранулами. Зазвичай поблизу подібних клітин, позаклітинно гранул не відзначалося. Поодинокі мастоцити міжфолікулярних прошарків мали малі розміри, їх форма наближалася до трикутної або веретеноподібної. Гранули в них були дрібніші, щільність розташування гранул у цитоплазмі була меншою за вищезазначених клітин, але позаклітинно гранули не візуалізувалися або були поодинокі. Світлі клітини завжди були менших розмірів з ознаками оксифілії гранул, з нерівним контуром, поблизу них відзначалася певна кількість гранулярного матеріалу.

Після внутрішньоутробної дії стафілококового анатоксину у тварин раннього молочного періоду відзначено зменшення кількості мастоцитів у серійних зрізах на одиницю площі у 1,2 рази у порівнянні з контролем, що становило 36,32 (18,24; 53,41) та 44,87 (21,08; 67,26) відповідно. Зміна кількості мастоцитів може бути пов'язана, по-перше, з перекалібруванням (укрупненням) фолікулів по всьому зрізу. По-друге, це може бути результатом тотальної дегрануляції мастоцитів, внаслідок чого при підрахунку не всі вони враховуються в силу різкого зниження тинкторіальних властивостей цитоплазми, подібна ситуація можлива за наявності високої щільності розподілу позаклітинних гранул. Дещо більша (в 1,26 рази) кількість мастоцитів овальної форми, великих розмірів, з добре вираженими гранулами у антиген-премійованих тварин спостерігалася вже на 7-му добу, що свідчить про процеси активного синтезу та накопичення біоактивних речовин. Можна припустити, що внутрішньоутробна дія стафілококового

анатоксину супроводжується адаптаційними процесами, спрямованими на відновлення і підтримку виражених змін складу мастоцитів. Проте рівень синтетичних процесів та накопичення метакроматичних гранул у основної популяції мастоцитів підвищений, без ознак активної дегрануляції та гранулолізу.

Значних змін зазнала популяція мастоцитів в експериментальній групі тварин середнього молочного віку. Середня кількість мастоцитів зростає практично в 2 рази, у порівнянні з раннім молочним віком (*табл. 2*). Для цитоподібної залози щурів після пренатальної дії стафілококового анатоксину характерною була наявність великої кількості мастоцитів у пухкій сполучній тканині, яка відмежовувала лімфоїдну тканину у вигляді лімфоїдного вузлика та у міжфолікулярній сполучній тканині (*рис. 1, а*). При чому мастоцити сполучної тканини, асоційованою з лімфоїдним вузликом, містили світлі гранули з ознаками оксифілії та нещільним розташуванням у цитоплазмі (*рис. 1, б*).

Оскільки мастоцити, як відомо, майже не поділяються мітотично у сполучній тканині, процес збільшення кількості мастоцитів на одиницю площі у антиген-премійованих тварин можемо пояснити їх активною міграцією [12]. При чому світлий колір гранул та розріджена щільність їх розташування свідчить про певну незрілість мастоцитів.

У пізньому молочному періоді популяція мастоцитів щитоподібної залози тварин експериментальної групи збільшувалась у кількісному та якісному складі відносно попереднього вікового періоду та у порівнянні з інтактною та контрольною групами, значення в яких між собою достовірно не мали відмінностей (*табл. 2*). Мастоцитарний пул клітин був представлений здебільшого зрілими клітинами (кулястої форми з базофільними щільно розташованими

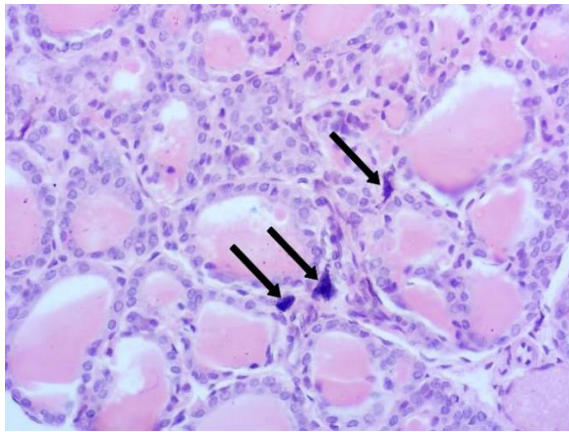
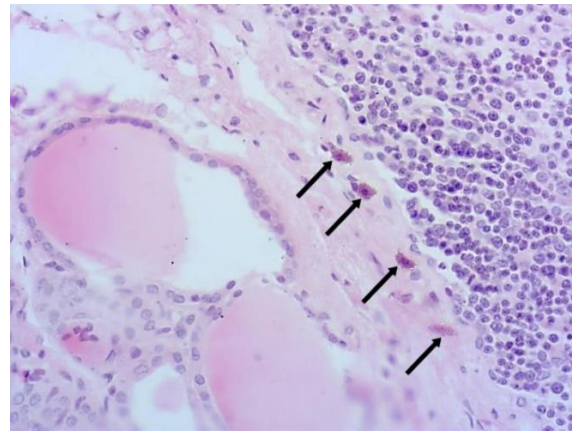
*a**б*

Рис. 1. Щитоподібна залоза щурів середнього молочного віку після пренатальної дії стафілококового анатоксину на плід. Забарвлення: Азур II та еозин. Збільшення:  $\times 400$ .

*a* – мастоцити з ознаками дегрануляції у міжфолікулярній сполучній тканині (вказано стрілками);

*б* – мастоцити лімфоїдасоціюваної сполучної тканини (вказано стрілками).

гранулами без ознак дегрануляції) у міжфолікулярній сполучній тканині та капсулі лімфоїдного вузлика. Мастоцити з ознаками дегрануляції різного ступеня здебільшого візуалізувалися біля фолікулів, які містили в просвіті дегенеративні клітини. У свою чергу тиреоїдний фолікулярний епітелій поблизу дегрануючих мастоцитів реагував проя-

вами проліферативних змін, які проявлялися появою великих світлих тирцитів, фігур мітозу або появою інтерфолікулярного росту з наступним поділом і відмежуванням фолікула (рис. 2, *a*). Дегрануляції мастоцитів лімфоїдасоціюваної сполучної тканини не відмічалось або вона була незначна (рис. 2, *б*).

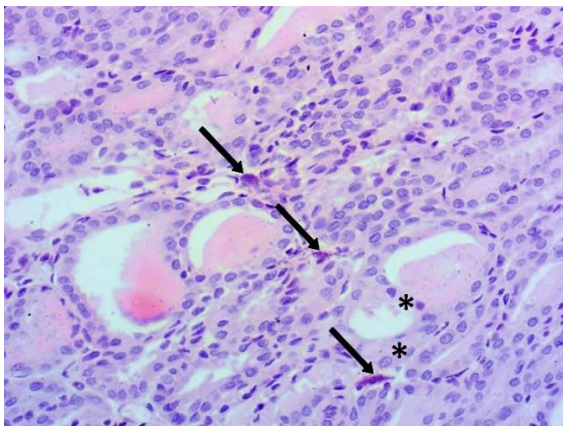
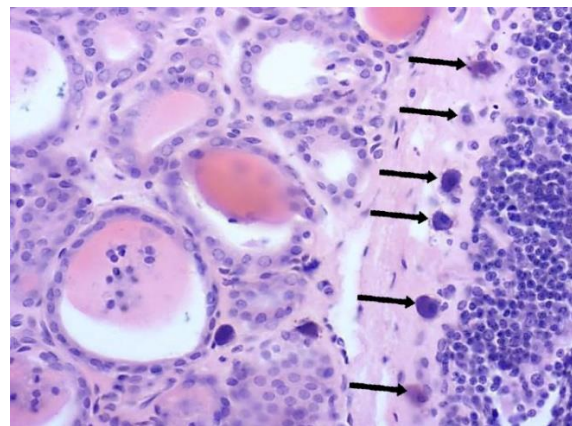
*a**б*

Рис. 2. Щитоподібна залоза щурів пізнього молочного віку після пренатальної дії стафілококового анатоксину на плід. Забарвлення: гематоксилін та еозин. Збільшення:  $\times 400$ .

*a* – мастоцити з ознаками дегрануляції у міжфолікулярній сполучній тканині (вказано стрілками),

\* – інтрафолікулярна проліферація тиреоїдного епітелію;

*б* – мастоцити лімфоїдасоціюваної сполучної тканини (вказано стрілками).

Таким чином, мав місце проліферативний стимулюючий ефект активних дегранулюючих мастоцитів фолікулоасоційованої сполучної тканини, у той час, як мастоцити лімфоїд-асоційованої сполучної тканини без ознак дегрануляції сприяли сполучнотканинним проліферативним процесам, що привело до формування капсули лімфоїдного інтраорганного вузлика, яка власне відмежовувала лімфоїдну тканину від паренхіми щитоподібної залози, формуючи разом із присутніми там мастоцитами певний бар'єр.

### Висновки

Унаслідок пренатальної дії антигену – стафілококового анатоксину на організм постнатально на ранніх етапах розвитку у щитоподібній залозі спостерігається певний баланс між процесами міграції, розподілу, дегрануляції мастоцитів та проліферативними процесами паренхіми, строми залози й формуванням лімфоїдної тканини у щитоподібній залозі у різні строки спостереження.

У щитоподібній залозі в ході морфогенетичних процесів при появі нових фолікулів, і внутрішньоклітинної регенерації, популяція мастоцитів реагує активно дегрануляцією, з викидом в міжклітинний простір біологічно-активних речовин, які, надають модулюючий вплив на компоненти щитоподібної залози, забезпечуючи підтримку порушеного гомеостазу і стимулюючи відновлювальні процеси. В ході постнатального морфогенезу залози функціональна активність мастоцитів забезпечується постійною зміною клітин, що може бути обумовлено або міграцією та надходженням ззовні зрілих типів клітин, багатих гранулами, або посиленням синтетичної активності мастоцитів, які знаходяться в органі та зазнали тотальної дегрануляції. При впливі додаткових тригерних факторів та надлишкової реактивності клітин адаптивного імунітету, а також при гіперактивності самих мастоцитів вірогідний зрив адаптаційних механізмів і розвиток аутоімунних захворювань.

### Література

1. Jonsdottir B, Lundgren M, Wallengren S, Lernmark Å, Jönsson I, et al. Are Perinatal Events Risk Factors for Childhood Thyroid Autoimmunity? *European thyroid journal*. 2017;6(6):298-306. DOI: 10.1159/000479964. PMID: 29234623. PMCID: PMC5704722.
2. Liu P, Zheng J, Yang P, Wang X, Wei Co, Zhang S, et al. The immunologic status of newborns born to SARS-CoV-2-infected mothers in Wuhan, China. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2020;146(1):101-9.e1. DOI: 10.1016/j.jaci.2020.04.038. PMID: 32437740. PMCID: PMC7211641.
3. Ajjan RA, Weetman AP. The pathogenesis of Hashimoto's thyroiditis: further developments in our understanding. *Horm. Metab. Res.* 2015;47(10):702-10. DOI: 10.1055/s-0035-1548832. PMID: 26361257.
4. Da Silva E, Jamur M, Oliver C. Mast cell function: a new vision of an old cell. *J. Histochem. Cytochem.* 2014;62(10):698-738. DOI: 10.1369/0022155414545334. PMID: 25062998. PMCID: PMC4230976.
5. Gilfillan AM, Beaven MA. Regulation of mast cell responses in health and disease. *Crit. Rev. Immunol.* 2011;31(6):475-529. DOI: 10.1615/critrevimmunol.v31.i6.30. PMID: 22321108 PMCID: PMC3395887.
6. Brown MA, Hatfield JK. Mast Cells are Important Modifiers of Autoimmune Disease: With so Much Evidence, Why is There Still Controversy? *Front. Immunol.* 2012;3:147. DOI: 10.3389/fimmu.2012.00147. PMID: 22701454. PMCID: PMC3369183.

7. Xu Y, Chen G. Mast cell and autoimmune diseases. *Mediators Inflamm.* 2015;2015:246126. DOI: 10.1155/2015/246126. PMID: 25944979. PMCID: PMC4402170.
8. Lu LF, Lind EF, Gondek DC, Bennett KA, Gleeson MW, Pino-Lagos K, Scott ZA, et al. Mast cells are essential intermediaries in regulatory T-cell tolerance. *Nature.* 2006;442(7106):997-1002. DOI: 10.1038/nature05010. PMID: 16921386.
9. Kambayashi T, Kambayashi T, Allenspach EJ, Chang JT, Zou T, Shoag JE, Reiner SL, et al. Inducible MHC class II expression by mast cells supports effector and regulatory T cell activation. *J. Immunol.* 2009;182(8):4686-95. DOI: 10.4049/jimmunol.0803180. PMID: 19342644. PMCID: PMC2922395.
10. Махинько ВИ, Никитин ВН. Константы роста и функциональные периоды развития в постнатальной жизни белых крыс. К.: Наукова думка; 1975. Молекулярные и физиологические механизмы возрастного развития; с. 308-25.
11. Медик ВА, Токмачёв МС, Фишман ББ. Статистика в медицине и биологии. Руководство. В 2-х томах. Комаров ЮМ, редактор. Москва: Медицина; 2000. 412 с. Том 1, Теоретическая статистика.
12. Fedosieieva OV. Morphogenesis of rat's thyroid gland in preweaning period after prenatal influence of staphylococcal toxoid. *Світ медицини та біології.* 2020;3(73):230-4.

*Fedosieieva O.V.*

**DYNAMICS OF DISTRIBUTION AND STRUCTURAL-FUNCTIONAL FEATURES OF MAST CELLS IN THE THYROID GLAND OF RAT'S OFFSPRING IN THE NORM AND AFTER PENATAL EXPOSURE OF STAPHYLOCOCCAL TOXOID**

The quantitative and functional state of mast cells, features of their localization in the age aspect of the early postnatal period of ontogenesis in normal and after prenatal exposure of staphylococcal toxoid to the fetus were studied in the thyroid gland of rats. As a material of the study were thyroid glands of Wistar rats aged 3 to 30 days of postnatal development (108 animals). Three groups of animals on the 3rd, 7th, 11th, 14th, 21st, 30th days of the postnatal life period were studied: I group – intact animals (norm); II group – control, animals which were injected with 0.9% NaCl solution on the 18th day of the dated pregnancy; III group – experimental animals injected with staphylococcal toxoid liquid purified adsorbed (10-14 binding units in 1 ml, diluted 10 times) at a dose of 0.05 ml. Staphylococcal toxoid and 0.9% NaCl solution were administered to the fetus surgically during laparotomy, by intrauterine, transdermal subcutaneous injection into the interscapular area at a dose of 0.05 ml to each fetus. It is established that as a result of prenatal action of antigen-staphylococcal toxoid on the body postnatally in the early stages of development in the thyroid gland there is a balance between the processes of migration, distribution, degranulation of mast cells and proliferative processes of parenchyma, gland stroma and lymph node formation. In the thyroid gland during morphogenetic processes with the appearance of new follicles and intracellular regeneration, the population of mast cells responds with active degranulation, with the release into the intercellular space of biologically active substances, which apparently have a modulating effect on thyroid components and supporting the thyroid gland. recovery processes.

**Keywords:** *thyroid gland, antigen, staphylococcal toxoid, mast cells, experiment, rats.*

*Федосеева О.В.*

**ДИНАМИКА РАСПРЕДЕЛЕНИЯ И СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ТУЧНЫХ КЛЕТОК В ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЕ ПОТОМСТВА КРЫС В НОРМЕ И ПОСЛЕ ПРЕНАТАЛЬНОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ СТАФИЛОКОККОВОГО АНАТОКСИНА**

По результатам исследования установлено, что после пренатального действия антигена – стафилококкового анатоксина на организм постнатально на ранних этапах развития в щитовидной железе наблюдается определенный баланс между процессами миграции, распределения, дегрануляции тучных клеток и пролиферативными процессами паренхимы, стромы железы и формированием лимфоидной ткани в щитовидной железе в разные сроки наблюдения. В щитовидной железе в ходе морфогенетических процессов при появлении новых фолликулов, и внутриклеточной регенерации, популяция тучных клеток реагирует активной дегрануляцией, с выбросом в межклеточное пространство биологически активных веществ, которые оказывают модулирующее влияние на компоненты щитовидной железы, обеспечивая поддержку нарушенного гомеостаза и стимулируя восстановительные процессы.

*Ключевые слова:* щитовидная железа, антиген, стафилококковый анатоксин, мастоциты, эксперимент, крысы.

*Надійшла до редакції 06.02.2021*

**Відомості про автора**

*Федосеева Ольга Віталіївна* – кандидат медичних наук, доцент кафедри гістології, цитології та ембріології Запорізького державного медичного університету.

Адреса: Україна, 69035, м. Запоріжжя, просп. Маяковського, 26.

E-mail: [fedoseeva.ov.1@gmail.com](mailto:fedoseeva.ov.1@gmail.com)

ORCID: 0000-0003-2247-1965.