

Таким образом, можно сделать следующие выводы:

ЛПС-связывающий потенциал моноцитов в группах больных, содержащих патологическую аллель Т, достоверно выше, чем у больных нормо- и гиперреспондеров с генотипом СС и в группе контроля.

Таким образом, больные ДТЗ с антительным гипореспондерным ответом на ЭТ и генотипом, содержащим Т аллель, более склонны к клеточному гиперреспондерному ответу на ЭТ, что может определять его значительное патологическое влияние на формирование ДТЗ.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Гордиенко А. И. Улучшенный метод получения флуоресцентного зонда для определения липополисахарид-связывающих рецепторов методом проточной лазерной цитофлуориметрии // Таврический медико-биологический вестник. – 2007. – Т. 10. № 4. – С. 156–160.
2. Кулагина Ю. Ю., Малый К. Д. Генетический полиморфизм CD14 рецепторов у больных диффузным токсическим зобом // Иммунология та алергологія. – 2011. – № 4. – С. 23–26.
3. Олійник В. А. Патологія щитовидної залози в Україні (епідеміологія та регіональні особливості) // Журнал практичного лікаря. – 2001. – № 2. – С. 5–7.

4. Пат. 70193 А Україна, МКІ 7 А61К31/01. Спосіб визначення антитіл до діполісахаридів грам-негативних бактерій. Пат. 70193 А Україна, МКІ 7 А61К31/01. А. И. Гордиенко, В. А. Белоглазов; КГМУ им. С. И. Георгиевского; заявл. 29.12.03; опубл. 15.09.04. Бюл. № 9.

5. Симбирцев А. С., Громова А. Ю. Функциональный полиморфизм генов регуляторных молекул воспаления // Цитокины и воспаление. – 2005. – Т. 4. № 1. – С. 3.

6. Сульская Ю. В. Взаимосвязь между генетическим полиморфизмом Toll-like рецепторов 4-го типа, степенью ответа на эндотоксин кишечной палочки и некоторыми иммунологическими показателями у больных сахарным диабетом 2-го типа // Оригинальные исследования. – 2011. – № 1 (33). – С. 72–24.

7. Han D., She W., Zhang L. Association of the CD14 gene polymorphism C-159T with allergic rhinitis // Am. j. rhinol. allergy. – 2010. – № 24. – P. 3.

8. Kurne A. Lack of association of the CD14/C – 159T polymorphism with susceptibility and progression parameters in Turkish multiple sclerosis patients / A. Kurne, G. Sayat, O. F. Aydin // J. neuroimmunol. – 2012. – № 250 (1–2). – P. 83–86.

9. Liu X. Q., Yang J. Y. The association between C-159T polymorphism in promoter region of CD 14 polymorphism and coronary heart disease // Yi Xue Xin Zhi Za Zhi. – 2010. – № 20. – P. 427–429.

Поступила 20.05.2014

**В. С. БОТАШЕВА, Н. А. СТАДНИК**

## ПОКАЗАТЕЛИ ОБЛАСТЕЙ ЯДРЫШКОВЫХ ОРГАНИЗАТОРОВ ГЕПАТОЦИТОВ ГЕПАТОЦИТОВ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ТИРЕОТОКСИКОЗЕ

*Кафедра патологической анатомии с курсом судебной медицины*

*ГБОУ ВПО «Ставропольский государственный медицинский университет» Минздрава России, Россия, 355017, г. Ставрополь, ул. Мира, 310; тел. 89624009040. E-mail: sna1@bk.ru*

На лабораторных животных получена экспериментальная модель тиреотоксикоза. Работа выполнена на 46 белых крысах-самцах линии Вистар массой тела 250–300 г. Лабораторным животным ежедневно вводили L-тироксин в дозе 1,6 мг на 1 кг массы тела. Крыс выводили из опыта через 7, 14, 21, 28, 45, 60 и 90 суток. Для определения уровня тиреоидных гормонов проводили забор крови из хвостовой вены. Проведено макроскопическое и микроскопическое исследование печени. Результаты экспериментального исследования показали, что при ежедневном введении L-тироксина наблюдаются увеличение уровня тиреоидных гормонов (Т4, Т3) в крови и уменьшение тиреотропного гормона (ТТГ). При гистологическом исследовании в печени выявлены диффузная гидropическая и баллонная дистрофия гепатоцитов, участки колликвационного некроза с формированием полостей, диффузный перисинусоидальный отек, лимфоцитарная инфильтрация. При окраске азотно-кислым серебром выявлены ядрышковые организаторы. Отмечаются увеличение количества областей ядрышковых организаторов при экспериментальном тиреотоксикозе на 28-е сутки и постепенное уменьшение их к концу эксперимента.

**Ключевые слова:** щитовидная железа, тиреотоксикоз, печень, гидropическая дистрофия, перисинусоидальный отек, области ядрышковых организаторов гепатоцитов.

**V. S. BOTASHEVA, N. A. STADNYK**

NUCLEOLAR ORGANIZER REGIONS INDICATORS HEPATOCYTES  
IN EXPERIMENTAL THYROTOXICOSIS

On laboratory animals received experimental model of hyperthyroidism. Work carried out on 46 white male rats of Wistar weighing 250–300 g. Laboratory animals administered daily L-thyroxine in a dose of 1,6 mg per 1 kg of body weight. Rats were taken out of the experience through 7, 14, 21, 28, 45, 60 and 90 days. To determine the level of thyroid hormone blood sampling was carried out from tail vein. Conducted macroscopic and microscopic examination of the liver. The experimental results showed that the daily administration of L-thyroxine observed increase in the level of thyroid hormones (T<sub>4</sub>, T<sub>3</sub>) in the blood and a decrease in thyroid stimulating hormone (TSH). Histological examination of the liver revealed diffuse hydropic and ballooning degeneration of hepatocytes, colliquative necrosis areas with the formation of cavities, diffuse perisinusoidal edema, lymphocytic infiltration. When stained with nitro acid silver identified nucleolar organizers. Marked increase in the number of nucleolar organizer regions in experimental thyrotoxicosis on the 28th day and the gradual reduction of the end of the experiment.

*Key words:* thyroid, hyperthyroidism, liver, hydropic degeneration, perisinusoidal edema, nucleolar organizer region of hepatocytes.

### **Введение**

В настоящее время во всем мире отмечается увеличение числа больных с эндокринологическими заболеваниями. По данным ВОЗ, патология щитовидной железы наблюдается у 7% населения земного шара.

Среди тиреоидной патологии одним из распространенных синдромов является тиреотоксикоз. Тиреотоксикоз характеризуется длительным и стойким избытком тиреоидных гормонов в крови. При тиреотоксикозе поражаются все органы и системы организма. Одним из главных органов-мишеней, подверженных воздействию избытка тиреоидных гормонов при тиреотоксикозе, является печень. Печень участвует в метаболизме тиреоидных гормонов, происходит превращение Т<sub>4</sub> в Т<sub>3</sub> под воздействием ферментной системы Д1 (дейодиназа типа I). При тиреотоксикозе в печени могут развиваться дистрофические изменения гепатоцитов, перисинусоидальный отек, лимфоцитарная инфильтрация (тиреотоксическая печень). Процессы повреждения печени стимулируют регенерацию гепатоцитов, увеличивается количество крупных и двуядерных гепатоцитов.

В настоящее время доказано, что состояние областей ядрышковых организаторов является маркером скорости клеточной пролиферации и пролиферативной активности клеток в целом [5, 6, 7, 9].

В последние годы выявлено, что аргирофильные белки областей ядрышковых организаторов участвуют в регуляции митотического цикла и являются маркерами клеточной пролиферации. Области ядрышковых организаторов (ОЯОР) представляют собой участки вторичных перетяжек десяти акроцентрических хромосом, локализованных на их коротких плечах. В этих участках располагаются гены, кодирующие рибосомы РНК (рРНК), с которыми ассоциированы кислые негистоновые белки, обладающие аргирофильными свойствами. Аргирофильные бел-

ки областей ядрышковых организаторов участвуют в механизмах контроля вступления клеток в цикл и регулируют скорость прохождения фаз клеточного цикла. Многими исследователями установлена зависимость пролиферативной активности клеток от уровня экспрессии аргирофильных белков областей ядрышковых организаторов (Ад-ОЯОР). Основную массу Ад-ОЯОР-белков (60–75%) составляют белки С23 (нуклеолин) и В23 (нуклеофозмин). Аргирофильные свойства, т. е. способность окрашиваться нитратом серебра, используются для выявления количества и размеров гранул серебра, что отражает пролиферативную активность клеток [1, 2, 3, 4, 8].

Цель исследования – определить состояние областей ядрышковых организаторов гепатоцитов при экспериментальном тиреотоксикозе.

### **Материалы и методы исследования**

Работа выполнена на 46 белых крысах-самцах линии Вистар весом 250–300 г возрастом 8–9 месяцев. Получена экспериментальная модель тиреотоксикоза путем ежедневного введения L-тироксина в дозе 1,6 мг на 1 кг массы тела. В качестве контрольного материала использовали 16 крыс, которые находились в одинаковых условиях с подопытными животными, но им препарат не вводили. Для проведения опытов отбирали здоровых крыс. Крысы содержались в оптимальных условиях, для кормления использовали рационы для лабораторных животных в соответствии с ГОСТ Р 50258-92. При проведении эксперимента соблюдали правила, указанные в следующих нормативных документах: правила лабораторной практики (GLP) при проведении доклинических исследований в РФ; Федеральный закон «О лекарственных средствах» от 22.06.1998 № 86-ФЗ (Собрание законодательства РФ от 29.06.1998 г., № 26, ст. 3006;

от 13.01.2003 г. № 2, ст. 167; от 10.01.2000 г. № 2, ст. 126; от 07.01.2002 г. (часть I), № 1, ст. 2) и Положение о Министерстве здравоохранения РФ, утвержденное Постановлением Правительства РФ от 29.04. 2002 г. № 284 (Собрание законодательства РФ, 06.05.2002 г., № 18, ст. 1771), а также в соответствии с ГОСТ 3 51000.3-96 и 51000.4-96. В ходе эксперимента соблюдали международные рекомендации Европейской конвенции по защите позвоночных животных.

Продолжительность эксперимента составила 90 дней. Крыс выводили из опыта через 7, 14, 21, 28, 45, 60 и 90 суток.

Для гистологического исследования брали кусочки печени крыс, фиксировали их в 10%-ном нейтральном формалине в течение 10 суток, после чего промывали в проточной воде, проводили через спирты возрастающей крепости, заливали в парафин и готовили срезы толщиной 5–6 микрон. Для выявления областей ядрышковых организмов (ОЯОР) парафиновые срезы окрашивали азотно-кислым серебром по методу D. Ploton и J. Crocker. Проведено морфометрическое исследование ОЯОР в гистопрепаратах печени крыс контрольной и опытной групп. Для морфометрического исследования отбирали 30 наиболее типичных по гистологическому строению участков препаратов, проводили подсчет количества ОЯОР.

Статистическая обработка результатов исследования была проведена с помощью пакета программ «Statistica 6.0 for windows», программы статистического анализа «Biostat» (1998) и модуля Excel пакета «Microsoft office» (2007). За достоверные различия в сравнении средних величин брали t-критерий Стьюдента при  $p < 0,05$ .

### Результаты исследования

При экспериментальном тиреотоксикозе на 7-е сутки уровень гормонов щитовидной железы (Т3 и Т4) изменяется незначительно и почти не отличается от контрольной группы. С 14-х суток отмечается значительное повышение уровня Т4 почти в 2 раза, к концу эксперимента Т4 повысился почти в 6 раз и составил  $26,9 \pm 0,02$ . Уровень Т3 повысился незначительно, а на 60-е и 90-е сутки понизился на 0,3 единицы, что обусловлено, по-видимому, снижением процессов дейодирования в печени. Уровень тиреотропного гормона (ТТГ) начинает уменьшаться во все сроки эксперимента и к 60-м – 90-м суткам понижается до 1,5–1,4 ед.

При тиреотоксикозе масса печени крысы постепенно увеличивается начиная с 21-х суток, на 45-е и 60-е сутки выявлено статистически достоверное увеличение массы печени на 3,2 г. При осмотре поверхность печени гладкая, на разрезе ткань печени полнокровная, темно-красного цвета.

Размеры печени начинают увеличиваться с 14 суток, на 45-е сутки отмечается значительное

увеличение размеров, к концу эксперимента размеры печени увеличиваются в 2 раза.

При гистологическом исследовании выявлено, что через 7 суток от начала эксперимента в печени крыс структурные изменения не обнаружены. Отмечается неравномерное венозное полнокровие синусоидальных капилляров центральных вен и междольковых сосудов. В перипортальных зонах выявлены очаги начинающегося отека. В единичных гепатоцитах обнаружены мелкие вакуоли. Основная масса гепатоцитов без патологических изменений.

На 14-е сутки в гепатоцитах обнаружены признаки гидропической дистрофии, а именно накопление в цитоплазме мелких вакуолей. Вакуоли заполнены прозрачной цитоплазматической жидкостью. Вакуолизация цитоплазмы носит очаговый характер и возникает в отдельных гепатоцитах.

Через 21 сутки в печени сохраняются сосудистые нарушения и отмечается усиление отека. Отек распространяется на всю дольку и носит диффузный характер. По всей поверхности среза в строме печени определяются многочисленные инфильтраты, состоящие из лимфоцитов, гистиоцитов и фибробластов. Большинство инфильтратов располагается вокруг сосудов. В цитоплазме гепатоцитов обнаружены крупные вакуоли, которые заполняют почти всю клетку, и ядро плавает в этой жидкости, развивается баллонная дистрофия.

Через 28 суток отек стромы становится весьма интенсивным и распространяется на всю печень. Отек наиболее выражен в перивенулярных пространствах, особенно в области триад. Основное вещество набухает и разрушается, происходит дезорганизация соединительной ткани с накоплением гликозаминогликанов.

В эти сроки нарастает интенсивность дистрофических изменений с распространением их на всю печень. Цитоплазма гепатоцитов подвергается цитолизу. Очаги цитолиза многочисленные и более крупные, чем на 21-е сутки. Отмечается тотальное повреждение гепатоцитов с развитием баллонной дистрофии, т. е. колликвационного некроза. Инфильтраты становятся более крупными.

Через 45 суток гепатоциты с тяжелыми дистрофическими и некротическими изменениями, увеличивается количество очагов цитолиза, а также увеличиваются количество и размеры полостей. Между полостями в паренхиме печени определяются светлые гепатоциты, увеличенные в объеме, округленные с как бы пустой цитоплазмой. Ядра описанных гепатоцитов уменьшены в размерах, пикнотичные. Такие измененные гепатоциты составляют основную массу печеночных клеток и расположены во всей печени, особенно в I и II зонах. На фоне описанных изменений и выраженного отека отмечается диффузная инфиль-

трация стромы печени лимфоцитами с примесью небольшого количества гистиоцитов. В указанные сроки впервые выявлена очаговая пролиферация фибробластов.

Через 60 суток отек печени становится очень интенсивным, наблюдаются значительная атрофия и истончение печеночных балок и гепатоцитов. В печени определяются обширные очаги цитолиза с образованием крупных оптически пустых пространств в виде полостей.

Через 90 суток в печени значительно нарастает перисинуоидальный и перивенулярный отек. Печеночные балки очень истончены, края балок неровные, как бы зазубрены. Очаги фиброза обнаружены по ходу портальных трактов и в области триад.

При окраске азотно-кислым серебром выявлено, что области ядрышковых организаторов гепатоцитов в контрольной группе составили  $1,8 \pm 0,01$  (таблица). Они окрашены в темно-коричневый цвет,

округлой формы, расположены внутри ядрышка на некотором расстоянии друг от друга (рис. 1).

На 7-е сутки эксперимента области ядрышковых организаторов гепатоцитов располагаются внутри ядрышек, их число почти не отличается от контрольной группы и при морфометрическом исследовании составляет  $2,0 \pm 0,03$  (таблица). На 21-е сутки число ядер увеличивается незначительно и составляет  $2,15 \pm 0,53$ , что статистически незначимо (таблица).

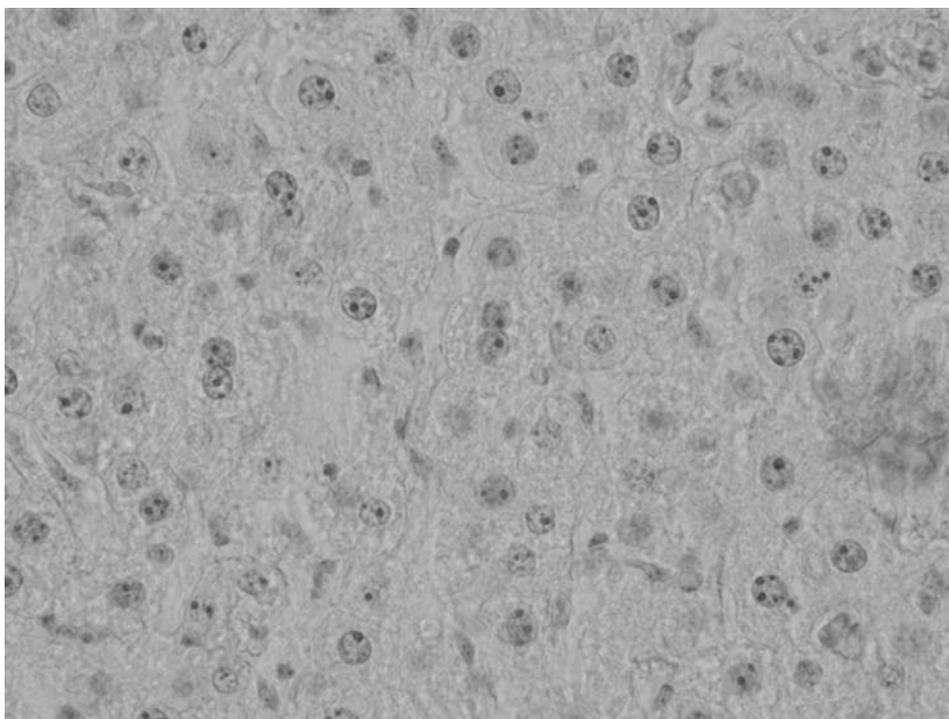
ОЯОР располагаются внутри ядрышек. Обращают на себя внимание увеличение размеров отдельных ОЯОР и более интенсивное их окрашивание.

На 28-е сутки наблюдается значительное увеличение числа ОЯОР – до  $4,3 \pm 0,03$  (таблица). В некоторых гепатоцитах выявлены крупные и интенсивно окрашенные азотно-кислым серебром ОЯОР, расположенные в центре ядра. Помимо

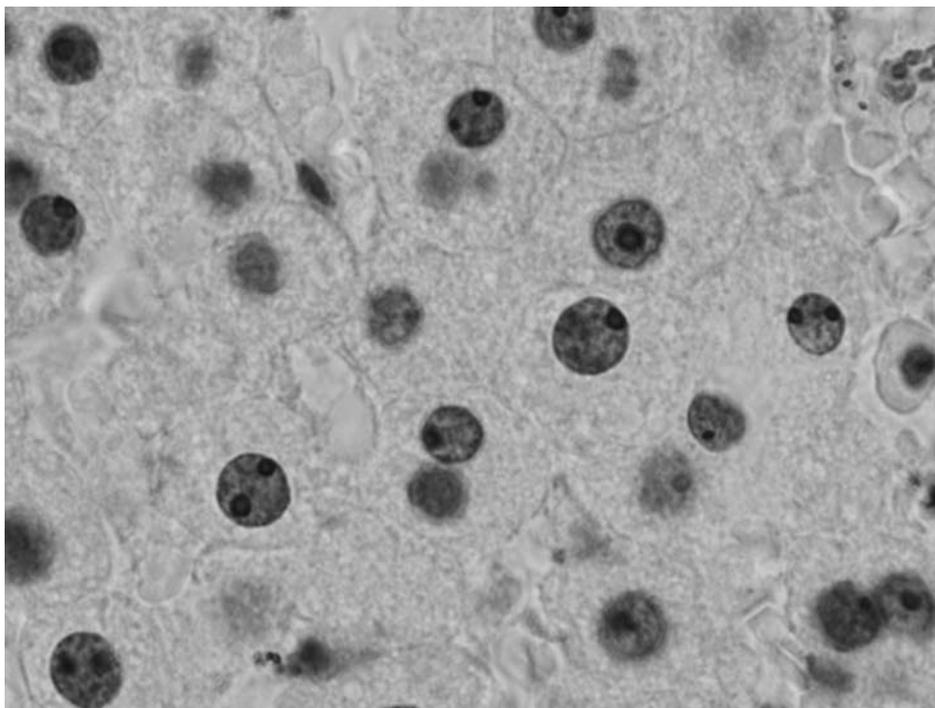
### Показатели результатов исследования областей ядрышковых организаторов гепатоцитов при экспериментальном тиреотоксикозе (ОЯОР)

Сроки наблюдений (сутки)							
Контроль	7	14	21	28	45	60	90
M±m	M±m	M±m	M±m	M±m	M±m	M±m	M±m
1,8±0,01	2,0±0,03	2,1±0,52	2,15±0,53	4,3±0,03*	3,3±0,02*	1,3±0,03*	1,3±0,03*

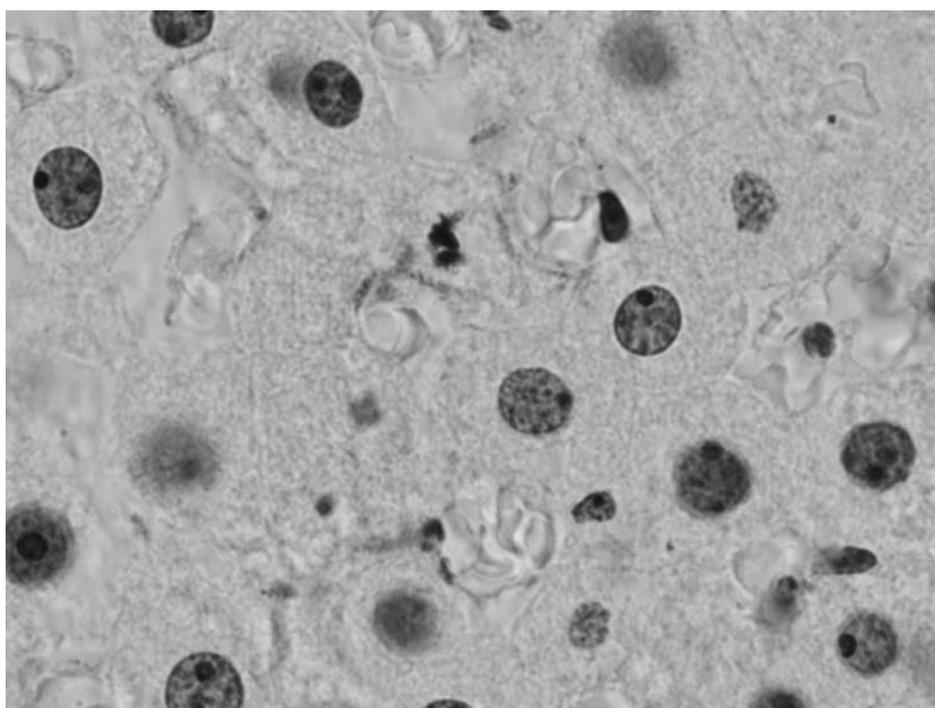
**Примечание:** статистическая значимость различий с контрольным материалом обозначена \* –  $P < 0,05$ .



**Рис. 1.** Области ядрышковых организаторов гепатоцитов крыс контрольной группы. Окраска азотно-кислым серебром. х400



**Рис. 2.** Деталь предыдущего рисунка при увеличении 1000.  
Окраска азотно-кислым серебром. x1000



**Рис. 3.** Области ядрышковых организаторов (28-е сутки).  
Окраска азотно-кислым серебром. x1000

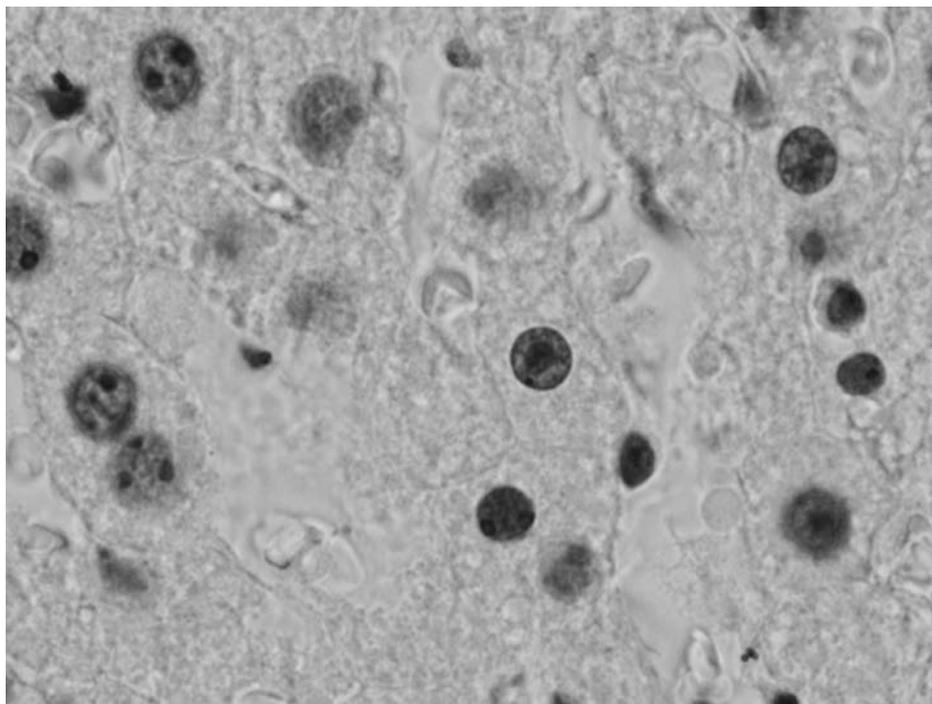
крупных ОЯОР обнаружены мелкие гранулы по всему ядру (рис. 3).

На 45-е сутки число областей ядрышковых организаторов уменьшается и составляет  $3,3 \pm 0,02$  (таблица). ОЯОР располагаются неравномерно, чаще в I зоне. В центральной части печеночных долек ОЯОР не определяются или весьма малочисленные, что обусловле-

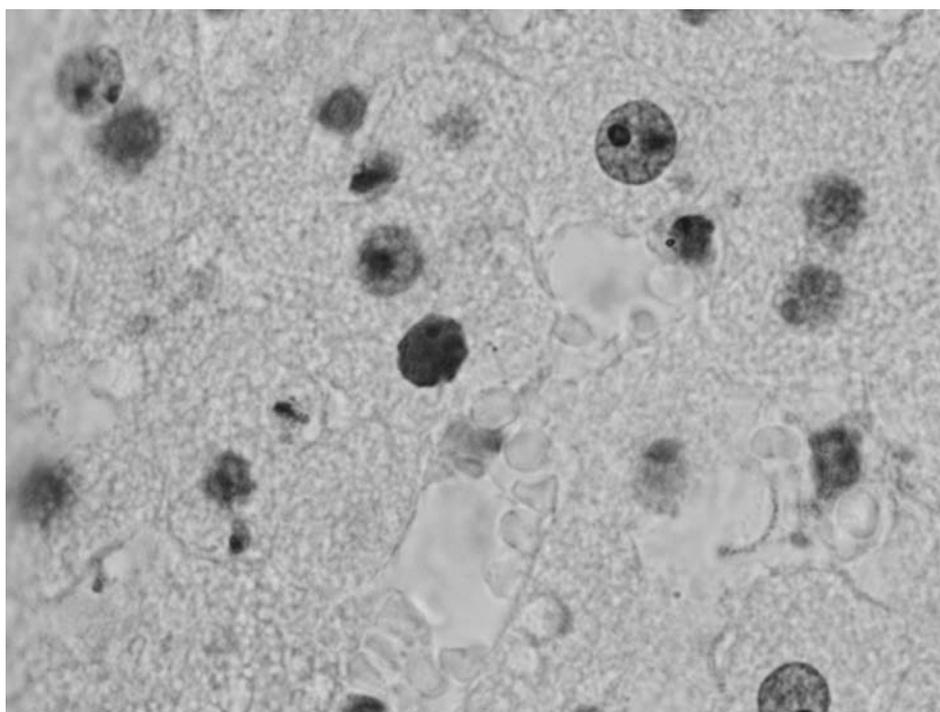
но разрушением гепатоцитов, лизисом паренхимы печени (рис. 4).

К концу эксперимента, на 60-е и 90-е сутки, количество ОЯОР уменьшается и составляет  $1,3 \pm 0,03$  (таблица); уменьшаются размеры самих ядрышек, часть ядрышек окрашена бледно (рис. 5).

Таким образом, при экспериментальном тиреотоксикозе отмечаются увеличение числа областей



**Рис. 4.** Неравномерное расположение областей ядрышковых организаторов. Окраска азотно-кислым серебром. x1000



**Рис. 5.** Уменьшение числа ОЯОР (60-е сутки). Окраска азотно-кислым серебром. x1000

ядрышковых организаторов к 28-му дню и их постепенное уменьшение к концу эксперимента.

### Обсуждение

Таким образом, при экспериментальном тиреотоксикозе в печени развиваются диффузный отек, гидropическая и баллонная дистрофия гепатоцитов, колликвационный некроз гепатоцитов с аутолизом некротических масс, образо-

ванием полостей, очаговая и диффузная лимфогистиоцитарная инфильтрация. Указанные изменения являются морфологической основой тиреоидной гепатопатии (тиреотоксическая печень).

Результаты исследования областей ядрышковых организаторов выявили прямую зависимость между активностью ОЯОР и степенью повреждения гепатоцитов. По мере нарастания

дистрофических изменений гепатоцитов в I зоне начинается постепенное увеличение ОЯОР в III зоне. На 28-е сутки эксперимента с появлением очагов колликвационного некроза, лизисом паренхимы с образованием полостей происходит наибольшее увеличение количества ОЯОР. Эти данные коррелируют с увеличением количества пролиферирующих гепатоцитов в III зоне ацинуса. В последующие сроки эксперимента число ОЯОР постепенно уменьшается вследствие повреждения гепатоцитов во всех трех зонах. Аргирофильные негестоновые белки, ассоциированные с областями ядрышковых организаторов, являются специфичными маркерами рибосом и служат одним из факторов регуляции клеточной пролиферации. Активность ОЯОР является дополнительным объективным критерием состояния репаративных процессов в печени при ее повреждении.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Акимов О. В. Активность ядрышковых организаторов в опухолеподобных процессах и опухолях молочных желез у мужчин // Труды I съезда Российского общества патологоанатомов. – М., 1996. – С. 12–13.
2. Акимов О. В. К вопросу об активности ядрышковых организаторов в опухолеподобных процессах у мужчин и женщин // Труды I съезда Российского общества патологоанатомов. – М., 1996. – С. 11–12.

3. Боташева В. С. Показатели активности ядрышковых организаторов при патологии щитовидной железы // Архив патологии. – 2000. – № 1. Т. 62. – С. 21–24.

4. Лазарев А. Ф., Кобяков Д. С., Климачев В. В., Авдалян А. М., Бобров И. П. Аргирофильные белки районов ядрышковых организаторов в аденомах с различной степенью дисплазии и аденокарциноме толстой кишки // Архив патологии. – 2010. – № 4. – С. 16–20.

5. Райхлин Н. Т., Букаева И. А., Пробатова Н. Н., Смирнова Е. А., Тупицин Н. Н., Шолохова Е. Н. Ядрышковый организатор как маркер степени злокачественности и прогноза неходжкинских злокачественных лимфом // Архив патологии. – 1996. – № 4. – С. 22–28.

6. Райхлин Н. Т., Букаева И. А., Пробатова Н. Н., Смирнова У. А. Аргирофильные белки областей ядрышковых организаторов – маркеры скоростиклеточной пролиферации // Архив патологии. – 2006. – № 3. – С. 47–50.

7. Турбин Д. А. Определение активности областей ядрышкового организатора в доброкачественных и злокачественных эпителиальных опухолях толстой кишки // Труды I съезда Российского общества патологоанатомов. – М., 1996. – С. 12–13.

8. Aubele M., Bieterferd S., Derenzini M. et al. Guidelines of AgNOR quantitation // Zbl. pathol. – 1994. Bd. 140. – P. 107–108.

9. Ofner D. and Schmid K. W. Standardized AgNOR analysis: its usefulness in surgical oncology // Histochem. cel. biol. – 1996. – V. 106. – P. 193–196.

Поступила 11.05.2014

**В. Б. БРИН<sup>1,2</sup>, А. К. МИТЦИЕВ<sup>1</sup>, К. Г. МИТЦИЕВ<sup>2</sup>**

## ВЛИЯНИЕ ПРЕПАРАТА «МЕЛАКСЕН» НА ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ И АНТИОКСИДАНТНУЮ СИСТЕМУ ПРИ ОТРАВЛЕНИИ РТУТЬЮ И КАДМИЕМ

<sup>1</sup>Кафедра нормальной физиологии ГБОУ ВПО СОГМА Минздрава России, Россия, 362019, г. Владикавказ, ул. Пушкинская, 40; тел. (8672) 53-76-61. E-mail: vbbrin@yandex.ru;

<sup>2</sup>Институт биомедицинских исследований ВНЦ РАН и РСО – Алания, Россия, 362019, г. Владикавказ, ул. Пушкинская, 40; тел. (8672) 53-76-61. E-mail: digur1985@mail.ru

Отравление ртутью и кадмием приводит к развитию мощного окислительного стресса, сопровождающегося повышением концентраций малонового диальдегида и гидроперекисей. Данные изменения сочетаются с уменьшением активности каталазы, что свидетельствует об угнетении действия защитных механизмов антиоксидантной системы. Применение мелаксена в условиях хронической интоксикации солями тяжелых металлов оказывает выраженный антиоксидантный эффект, приводящий к снижению процессов липопероксидации и одновременному повышению активности каталазы.

**Ключевые слова:** перекисное окисление липидов, антиоксидантная система, ртуть, кадмий, мелаксен.

**V. B. BRIN<sup>1,2</sup>, A. K. MITTSIEV<sup>1</sup>, K. G. MITTSIEV<sup>2</sup>**

INFLUENCE OF PREPARATION "MELAXEN" ON LIPID PEROXIDATION AND ANTIOXIDANT SYSTEMS AT A POISONING MERCURY AND CADMIUM