

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Научная статья

УДК 616.441-085

doi: 10.19163/1994-9480-2022-19-1-162-166

**УЛЬТРАМИКРОСКОПИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ СТРОЕНИЯ
ТИРОЦИТОВ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ КРЫС
ПОСЛЕ 60-ДНЕВНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ БЕНЗОАТОМ НАТРИЯ**

В.Н. Морозов, Е.Н. Морозова, А.В. Тверской, С.В. Заболотная, А.В. Тверская

Белгородский государственный национальный исследовательский университет, Белгород, Россия

Автор, ответственный за переписку: Виталий Николаевич Морозов, morozov_v@bsu.edu.ru

Резюме. Бензоат натрия широко используется как в пищевой, так и в фармацевтической промышленности. Имеются данные, указывающие на его неблагоприятное воздействие на здоровье человека. Однако влияние бензоата натрия на ультраструктуру клеток щитовидной железы в настоящий момент недостаточно изучено. Материалы и методы. Животные были распределены на две группы: 1-й группе в течение 60 дней при помощи желудочного зонда вводился 1 мл раствора бензоата натрия в дозировке 1000 мг/кг массы тела, а 2-я группа послужила контролем. Образцы щитовидной железы после обработки изучали под электронным микроскопом. Результаты. В экспериментальной группе установлено, что тироциты имели кубическую, реже плоскую форму, расширенную гранулярную эндоплазматическую сеть с единичными скоплениями в полостях волоконистых структур, значительные глыбки гетерохроматина под ядерной мембраной с неровными контурами последней, электронно-плотный митохондриальный матрикс. Вывод. Вышеуказанные изменения свидетельствуют о влиянии введения бензоата натрия как локально (через повреждение ДНК ядра и митохондрий), так и на системном уровне (через снижение уровня лептина и, как следствие, влияние на гипоталамо-гипофизарно-щитовидную ось).

Ключевые слова: щитовидная железа, тироциты, ультраструктура, бензоат натрия

ORIGINAL RESEARCHES

Original article

**ULTRAMICROSCOPIC FEATURES OF THYROCYTES STRUCTURE OF RAT'S
THYROID GLAND AFTER 60-DAYS SODIUM BENZOATE ADMINISTRATION**

V.N. Morozov, E.N. Morozova, A.V. Tverskoi, S.V. Zabolotnaya, A.V. Tverskaya

Belgorod State National Research University, Belgorod, Russia

Corresponding author: Vitaly N. Morozov, morozov_v@bsu.edu.ru

Resume. Introduction. Sodium benzoate is widely used in both food and pharmaceutical industries. There is evidence of its adverse health effects; However, the effect of sodium benzoate on the ultrastructure of thyroid gland cells is currently not well understood. Materials and methods. The animals were divided into two groups: the group 1 was injected with 1 ml of sodium benzoate solution at a dosage of 1000 mg/kg/body weight intragastrically for 60 days, and the group 2 served as a control. Samples of thyroid gland after tissue processing were examined under an electron microscope. Results. In the experimental group, it was found that thyrocytes had a cubic, less often flat shape, an expanded rough endoplasmic reticulum with single accumulations in the cavities of fibrous structures, significant lumps of heterochromatin under the nuclear membrane with uneven contours of the latter, an electron-dense mitochondrial matrix. Conclusion. The above changes indicate the effect of sodium benzoate administration both locally (through damage to the DNA of the nucleus and mitochondria) and at the systemic level (through a decrease in leptin levels and, as a consequence, the effect on the hypothalamic-pituitary-thyroid axis).

Keywords: thyroid gland, thyrocytes, ultrastructure, sodium benzoate

В настоящее время бензоат натрия широко применяется в качестве пищевой добавки – консерванта для продуктов питания и напитков, в фармацевтической промышленности, однако остаются опасения

по поводу его полной безопасности для здоровья человека [1]. При этом экспериментальные и клинические исследования показывают неоднозначные в этом плане результаты.

© Морозов В.Н., Морозова Е.Н., Тверской А.В.,
Заболотная С.В., Тверская А.В., 2022

Так, имеются экспериментальные данные, что введение бензоата натрия вызывает хромосомные aberrации в культивируемых лимфоцитах человека [2]; индуцирует развитие оксидативного стресса, снижает активность ферментов антиоксидантной системы, повышает уровень биохимических маркеров печени (аланинаминотрансфераза, аспаратаминотрансфераза) и провоспалительных цитокинов (интерлейкин 6, фактор некроза опухоли альфа) в клетках [3].

По другим данным, бензоат натрия не оказывает мутагенного и тератогенного действия [4], а также используется в клинической практике в комплексной терапии резистентных форм шизофрении, болезни Альцгеймера, рассеянного склероза и болезни Паркинсона в качестве соединения с нейропротективными свойствами [1].

Эндокринная система вместе с нервной системой обеспечивает регуляцию и координацию функций организма и одной из первых подвергается воздействию неблагоприятных факторов как внешней, так и внутренней среды [6]. Физическое и эмоциональное здоровье требует нормального функционирования щитовидной железы, которая регулирует деятельность исполнительных систем организма, интенсивность обмена веществ, а также поведение и когнитивные функции.

Наиболее ранние морфологические изменения при воздействии неблагоприятных факторов обнаруживаются на субклеточном и клеточном уровнях организации материи

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Изучить на электронограммах электронно-микроскопические изменения тироцитов щитовидной железы половозрелых крыс после 60-дневного введения бензоата натрия.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Для эксперимента было отобрано 12 белых крыс-самцов репродуктивного периода массой 200–250 г. Животные были разделены на две группы по 6 особей в каждой. Первой группе ежедневно в течение 60 дней при помощи желудочного зонда вводился 1 мл раствора бензоата натрия в дозировке 1000 мг/кг массы тела (бензоат натрия, производитель EastmanChemical B.V., Нидерланды, расфасовано на КП КОР «Фармацевтическая фабрика», г. Киев по заказу АТ «Эксимед») [5]. Вторую группу составили контрольные животные, которым в аналогичных условиях вводился 1 мл 0,9%-го изотонического раствора натрия хлорида.

Содержание и манипуляции над животными проводились в соответствии с правилами содержания экспериментальных животных, установленной Директивой 2010/63 / EU Европейского парламента и Совета Европейского союза. После выведения животных из эксперимента извлекали щитовидную железу и измельчали ее на кусочки объемом 1 мм³. Последние фиксировали в 2,5%-м растворе глутаральдегида, с последующей обработкой в 1%-м тетроксиде осмия по G. Palade. После дегидратации в этаноле возрастающей концентрации и абсолютном ацетоне материал заливали смесью эпоксидных смол (эпон-аралдит). Полимеризацию проводили в течение 36 часов при 60 °С. Ультратонкие срезы изготавливали на ультрамикротоме УМТП-4 Сумского ПО «Электрон», контрастировали в растворе уранилацетата и цитрата свинца по E. Reynolds и изучали под электронным микроскопом EM-125 с дальнейшим фотографированием.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты исследования показали, что у животных контрольной группы на электронограммах щитовидная железа состоит из типичных фолликулов, содержащих коллоид. Эпителий фолликула состоит из двух типов клеток, расположенных на базальной мембране: основных фолликулярных клеток (тироцитов) и парафолликулярных клеток. Последние встречаются единично в поле зрения. Фолликулярные клетки имеют, преимущественно, кубическую форму с нерегулярно расположенными микроворсинками на апикальной поверхности. Между соседними клетками обнаруживаются типичные плотные контакты или интердигитации.

Ядро фолликулярной клетки, преимущественно овальной или округлой формы, с извилистыми контурами, локализуется в центральной или базальной части клетки. Гетерохроматин располагается узким прерывистым ободком под ядерной мембраной. Ядрышко визуализируется в периферической части кариоплазмы и имеет разную электронную плотность. Гранулярная эндоплазматическая сеть (гЭПС) тироцита распределена по всей цитоплазме, а по направлению к основанию клетки ее цистерны расширены. В цитоплазме располагаются единичные свободные рибосомы, многочисленные типичные удлинённые митохондрии с гомогенным, мелкозернистым матриксом. Между последними распределено умеренное количество округлой формы разных размеров лизосом. Около ядра визуализируется заметная зона, содержащая комплекс Гольджи, состоящий из группы цистерн с плотно упакованными вакуолями и мелкими

пузырьками. Апикальная часть цитоплазмы содержит несколько мелких пузырьков и типичные большие коллоидные капли с веществом, имеющим аналогичную электронную плотность с коллоидом. Основания тироцитов фолликулов прилежат к фенестрированным капиллярам.

Стромальный компонент в щитовидной железе контрольных животных развит умеренно.

При электронно-микроскопическом исследовании щитовидной железы подопытных крыс было выявлено, что тироциты имели кубическую форму, реже плоскую. Апикальная поверхность данных клеток содержала малое количество низких микроворсинок. гЭПС большинства тироцитов была расширена. В основном каналцы ее содержали однородный материал, но

в некоторых имелись аномальные электронно-плотные скопления. В ряде случаев в каналцах сборка прогрессировала до хорошо очерченных скоплений волнистых структур разного размера с круговой ориентацией, расположенных рыхло по отношению друг к другу.

В большинстве клеток ядра часто имели неправильную форму с неровными контурами, по сравнению с контролем. Гетерохроматин занимал почти всю периферию кариоплазмы. Митохондриальный матрикс был электронно-плотным. Лизосомы равномерно распределялись в цитоплазме (рис.). Небольшое количество маленьких пиноцитозных пузырьков с коллоидом располагалось в апикальной части большинства тироцитов.

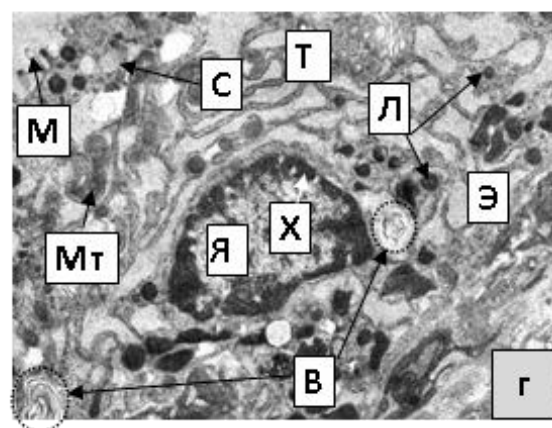
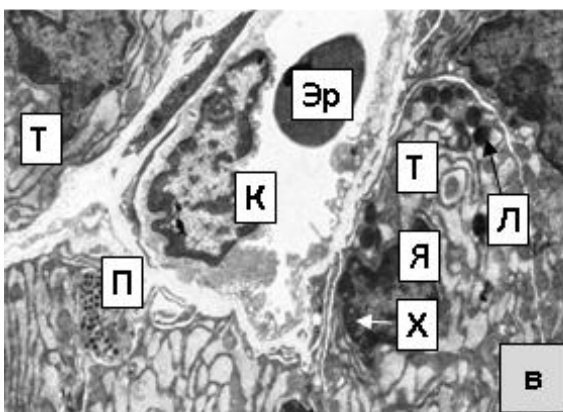
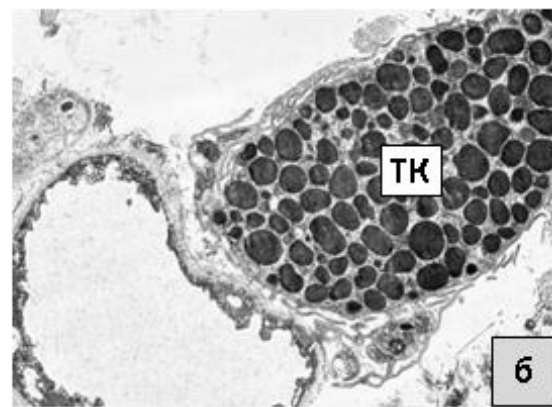
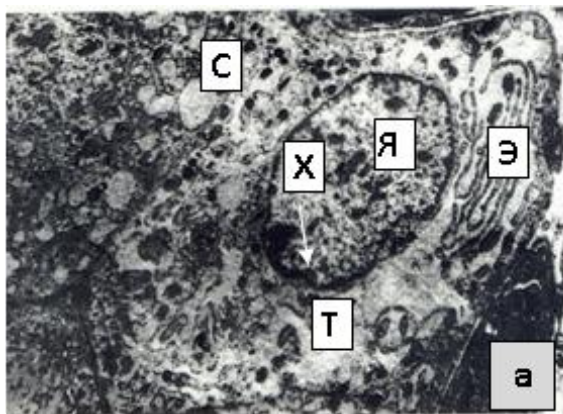


Рис. Участки щитовидной железы половозрелых крыс (а, б – контрольная группа, в, г – экспериментальная группа): Т – тироцит, Я – ядро, Х – гетерохроматин, Э – гЭПС, В – волокнистые скопления в цистернах гЭПС, Мт – митохондрии, Л – лизосомы, ТК – тучная клетка, С – секреторные гранулы, М – микроворсинка, К – капилляр, Эр – эритроцит, П – парафолликулярная клетка. Увеличение × 8000

Таким образом, ультрамикроскопическое исследование показало, что щитовидная железа половозрелых крыс-самцов образована тироцитами и единичными паратироцитами, имеющими типичное строение. Фолликулярные клетки ограничивают полость

с коллоидом и образуют фолликулы. Строма умеренно развита.

Аналогичную морфологическую картину подтверждают данные, полученные Ali Rajab N.M. и соавт. (2017) [7].

У экспериментальной группы, по сравнению с контролем, на электронограммах визуализировалось малое количество микроворсинок и небольших секреторных гранул в апикальной части тироцитов. Лизосомы равномерно были распределены в цитоплазме. Фолликулярные клетки выявлялись кубической, реже плоской формы. Аналогичные структурные изменения в тироцитах наблюдали Ali Rajab N.M. и соавт. (2017) при экзогенном введении тиреоидных гормонов в организм крыс, которые, как показало исследование, снижают уровень эндогенного тироксина [7]. По данным Piper J.D. и соавт. (2017), систематический прием или высокая концентрация бензоата натрия у мышей уменьшают синтез лептина адипоцитами [1]. Ramos C.F. и соавт. (2014) в своих исследованиях утверждает, что уменьшение лептина, воздействуя через аркуатное ядро гипоталамуса, приводит к снижению продукции тиреолиберина, а как следствие уменьшает продукцию тиреотропного гормона [2]. Последний, воздействуя на фолликулярные клетки щитовидной железы, снижает синтез тироксина.

Необходимо отметить, что в цитоплазме фолликулярных клеток щитовидной железы экспериментальных животных наблюдаются расширенные цистерны гЭПС, в которых встречаются единичные волнистые структуры разного размера с круговой ориентацией, расположенные рыхло по отношению друг к другу. По периферии ядра находятся значительные скопления гетерохроматина, митохондриальный матрикс электронно-плотный. Исследование Saatci C. и соавт. (2016) и Piper J.D. и соавт. (2017) показали, что высокие дозы бензоата натрия вызывают повреждение ДНК не только ядер эпителиальных клеток печени крыс, но и митохондрий [1, 8]. По данным Abdul-Hamid M. и соавт. (2013), мутации в ДНК могут приводить к нарушениям синтеза белка и замедлению его транспорта из гЭПС [9]. Данные исследования могут объяснить изменения, выявленные на электронограммах экспериментальной группы крыс.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. У животных контрольной группы тироциты щитовидной железы на электронограммах имеют типичное строение.

2. После воздействия бензоата натрия при ультрамикроскопическом исследовании фолликулярные клетки имеют кубическую, реже плоскую форму, расширенную гЭПС с единичными скоплениями в полостях волокнистых структур, значительные скопления гетерохроматина под ядерной мембраной с неровными

контурами последней, электронно-плотный митохондриальный матрикс, что может свидетельствовать о влиянии препарата как локально (через повреждение ДНК ядра и митохондрий), так и на системном уровне (через снижение уровня лептина и, как следствие, влияние на гипоталамо-гипофизарно-щитовидную ось).

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Piper J.D., Piper P.W. Benzoate and Sorbate Salts: A Systematic Review of the Potential Hazards of These Invaluable Preservatives and the Expanding Spectrum of Clinical Uses for Sodium Benzoate // *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 2017. Vol. 16 (5). P. 868–880.
2. Ramos C.F., Zamoner A. Thyroid hormone and leptin in the testis // *Frontiers in Endocrinology*. 2014. Vol. 5. P. 198.
3. Khan I.S., Dar K.B., Gani S.A., Ali M.N. Toxicological impact of sodium benzoate on inflammatory cytokines, oxidative stress and biochemical markers in male Wistar rats // *Drug Chem Toxicol*. 2020. P. 1–10. doi: 10.1080/01480545.2020.1825472.
4. Emon S.T., Orakdogan M., Uslu S., Somay H. Effects of the popular food additive sodium benzoate on neural tube development in the chicken embryo // *Turk Neurosurg*. 2015. Vol. 25 (2). P. 294–297.
5. Pongsavee M. Effect of sodium benzoate preservative on micronucleus induction, chromosome break, and Ala40Thr superoxide dismutase gene mutation in lymphocytes // *Biomed Res Int*. 2015. P. 103512.
6. Кубасов Р.В. Гормональные изменения в ответ на экстремальные факторы внешней среды // *Вестник РАМН*. 2014. № 9-10. С. 102–109.
7. 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 Journal of Biological Sciences*. 2017. Vol. 24 (6). P. 1117–1125.
8. Effect of sodium benzoate on DNA breakage, micronucleus formation and mitotic index in peripheral blood of pregnant rats and their newborns / C. Saatcia, Y. Erdemb, R. Bayramova [et al.] // *Biotechnology and biotechnological equipment*. 2016. Vol. 30, no. 6. P. 1179–1183.
9. Abdul-Hamid M., Salah M. Lycopene reduces delta-methrin effects induced thyroid toxicity and DNA damage in albino rats // *The Journal of Basic and Applied Zoology*. 2013. Vol. 66. P. 155–163.

REFERENCES

1. Piper J.D., Piper P.W. Benzoate and Sorbate Salts: A Systematic Review of the Potential Hazards of These Invaluable Preservatives and the Expanding Spectrum of Clinical Uses for Sodium Benzoate. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 2017;16(5):868–880.

2. Ramos C.F., Zamoner A. Thyroid hormone and leptin in the testis. *Frontiers in Endocrinology*. 2014;5:198.

3. Khan I.S., Dar K.B., Ganie S.A., Ali M.N. Toxicological impact of sodium benzoate on inflammatory cytokines, oxidative stress and biochemical markers in male Wistar rats. *Drug Chem Toxicol*. 2020;1–10. doi: 10.1080/01480545.2020.1825472.

4. Emon S.T., Orakdogan M., Uslu S., Somay H. Effects of the popular food additive sodium benzoate on neural tube development in the chicken embryo. *Turk Neurosurg*. 2015; 25(2):294–297.

5. Pongsavee M. Effect of sodium benzoate preservative on micronucleus induction, chromosome break, and Ala40Thr superoxide dismutase gene mutation in lymphocytes. *Biomed Res Int*. 2015:103512.

6. Kubasov R.V. Hormonal changes in response to extreme environmental factors. *Vestnik rossiiskoi akademii*

meditsinskikh nauk = Bulletin of Russian academy of medical sciences. 2014;9(10):102–109. (In Russ.).

7. 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 Journal of Biological Sciences*. 2017;24(6): 1117–1125.

8. Saatcia C., Erdemb Y., Bayramova R., Akalina H., Tascioglu N., Ozkul Y. Effect of sodium benzoate on DNA breakage, micronucleus formation and mitotic index in peripheral blood of pregnant rats and their newborns. *Biotechnology and biotechnological equipment*. 2016;30(6):1179–1183.

9. Abdul-Hamid M., Salah M. Lycopene reduces deltamethrine effects induced thyroid toxicity and DNA damage in albino rats. *The Journal of Basic and Applied Zoology*. 2013;66:155–163.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Информация об авторах

Виталий Николаевич Морозов – кандидат медицинских наук, доцент, доцент кафедры анатомии и гистологии человека, Белгородский государственный национальный исследовательский университет, Белгород, Россия;

Елена Николаевна Морозова – кандидат медицинских наук, доцент кафедры анатомии и гистологии человека, Белгородский государственный национальный исследовательский университет, Белгород, Россия, morozova_en@bsu.edu.ru

Алексей Владимирович Тверской – кандидат медицинских наук, доцент, исполняющий обязанности заведующего кафедрой анатомии и гистологии человека, Белгородский государственный национальный исследовательский университет, Белгород, Россия, tverskoy@bsu.edu.ru

Светлана Владимировна Заболотная – кандидат медицинских наук, доцент, доцент кафедры анатомии и гистологии человека, Белгородский государственный национальный исследовательский университет, Белгород, Россия, zabolotnaya@bsu.edu.ru

Анастасия Владимировна Тверская – кандидат медицинских наук, доцент кафедры анатомии и гистологии человека, Белгородский государственный национальный исследовательский университет, Белгород, Россия, tverskaya@bsu.edu.ru

Статья поступила в редакцию 24.08.2021; одобрена после рецензирования 04.10.2021; принята к публикации 13.10.2021.

The authors declare no conflicts of interests.

Information about the authors

Vitaly N. Morozov – Candidate of Medical Sciences, Associate Professor, Associate Professor of the Department of Human Anatomy and Histology, Belgorod State National Research University, Belgorod, Russia;

Elena N. Morozova – Candidate of Medical Sciences, Associate Professor of the Department of Human Anatomy and Histology, Belgorod State National Research University, Belgorod, Russia, morozova_en@bsu.edu.ru

Alexey V. Tverskoy – Candidate of Medical Sciences, Associate Professor, Acting Head of the Department of Human Anatomy and Histology, Belgorod State National Research University, Belgorod, Russia, tverskoy@bsu.edu.ru

Svetlana V. Zabolotnaya – Candidate of Medical Sciences, Associate Professor, Associate Professor of the Department of Human Anatomy and Histology, Belgorod State National Research University, Belgorod, Russia, zabolotnaya@bsu.edu.ru

Anastasia V. Tverskaya – Candidate of Medical Sciences, Associate Professor of the Department of Human Anatomy and Histology, Belgorod State National Research University, Belgorod, Russia, tverskaya@bsu.edu.ru

The article was submitted 24.08.2021; approved after reviewing 04.10.2021; accepted for publication 13.10.2021.