

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Научная статья

УДК 616-091.85

doi: 10.19163/1994-9480-2022-19-4-104-109

## ОСОБЕННОСТИ ЭКСПРЕССИИ ФАКТОРОВ ПРОЛИФЕРАЦИИ ТИРОЦИТОВ ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ ЭНДОГЕННОЙ ИНТОКСИКАЦИИ

*Л.В. Полякова, С.А. Калашникова, М.В. Букатин, Л.С. Быхалов*

*Волгоградский государственный медицинский университет, Волгоград, Россия*

**Автор, ответственный за переписку:** Людмила Викторовна Полякова, [lvpolyakova7@gmail.com](mailto:lvpolyakova7@gmail.com)

**Аннотация.** В настоящее время заболевания щитовидной железы являются одной из ключевых проблем современной эндокринологии, где актуальным остается восстановление тиреоидной паренхимы после воздействия негативных факторов и направленность пролиферативных процессов. Нами было проведено исследование материала, полученного от умерших лиц в рамках стандартного патологоанатомического исследования с последующим иммуногистохимическим исследованием экспрессии неспецифических маркеров пролиферативной активности. Было установлено, что пролиферативная активность тироцитов увеличивается по направлению от верхней к нижней части доли щитовидной железы. Также при сравнительном анализе центральной и периферической зон было выявлено, что в нормальных условиях источник новообразования тироцитов находится в центральной зоне, в то время как при вовлечении ткани в патологический процесс происходит увеличение экспрессии Ki-67 и PNH3 в периферической зоне. Таким образом, увеличение митотической активности клеток может приводить к развитию тиреопатии и нарушению тиреоидного гомеостаза, что служит основанием для проведения скринингового обследования щитовидной железы у пациентов с синдромом хронической эндогенной интоксикации.

**Ключевые слова:** щитовидная железа, регенерация, тироциты, эндогенная интоксикация, Ki-67, PNH3, клеточная пролиферация, иммуногистохимия

ORIGINAL RESEARCHES

Original article

## FEATURES OF THE PROLIFERATION FACTORS EXPRESSION OF THIROCITE IN CHRONIC ENDOGENOUS INTOXICATION

*L. V. Polyakova, S. A. Kalashnikova, M. V. Bukatin, L. S. Bykhalov*

*Volgograd State Medical University, Volgograd, Russia*

**Corresponding author:** Ludmila V. Polyakova, [lvpolyakova7@gmail.com](mailto:lvpolyakova7@gmail.com)

**Abstract.** Currently, thyroid diseases are one of the key problems of modern endocrinology, where the restoration of the thyroid parenchyma after exposure to negative factors and the direction of proliferative processes remain relevant. We conducted a study of the material obtained from deceased individuals as part of a standard pathoanatomical study, followed by an immunohistochemical staining of the expression of nonspecific markers of proliferative activity. It was found that the proliferative activity of thyrocytes increases from the upper to the lower part of the thyroid lobe. Also, in a comparative analysis of the central and peripheral zones, it was found that in normal conditions, the source of neoplasm of thyrocytes is located in the central zone, while when the tissue is involved in the pathological process, an increase in the expression of Ki-67 and PNH3 occurs in the peripheral zone. The mitotic activity of cells can lead to the development of thyropathy and disruption of thyroid homeostasis, which serves as the basis for screening the thyroid gland in patients with chronic endogenous intoxication syndrome.

**Keywords:** thyroid gland, regeneration, thyrocytes, endogenous intoxication, Ki-67, PNH3, cell proliferation, immunohistochemistry

Хроническая эндогенная интоксикация (ЭИ) играет значимую роль в развитии полигландулярной эндокринопатии с возникновением гормональной дисрегуляции [1]. В ответ на длительное повреждение

эндогенными токсическими соединениями (ЭТС) щитовидная железа (ЩЖ) реагирует морфофункциональной перестройкой паренхимы с нарушениями тиреоидного гомеостаза, который может стать иницирующим фактором в патогенезе различных соматических заболеваний. В настоящее время под рубрикой «Е07. Другие уточненные болезни щитовидной железы» в МКБ-10 включена достаточно большая группа заболеваний различных по этиологии и патогенезу, куда можно отнести и тиреопатии при хронической ЭИ. Известно, что подвергаясь длительному воздействию ЭТС, происходит убыль тироцитов и компенсаторное замещение паренхиматозными и стромальными элементами ткани [2].

Однако особенности механизмов восстановления тиреоидной паренхимы ЩЖ при длительном воздействии ЭТС остаются не ясными. Тироциты, как и все эпителиальные клетки, способны достаточно активно делиться, в связи с этим нередко можно наблюдать формирование узловых образований при возрастных изменениях и негативном воздействии факторов окружающей среды [3]. Однако роль ЭТС при формировании тиреопатий и ее морфологические критерии требуют уточнения. Гистотопография тироцитов представлена двумя компонентами: интрафолликулярным и экстрафолликулярным эпителием, которые служат источником новообразования фолликулов. Помимо физиологического обновления клеток, при увеличении концентрации ЭТС происходит замещение паренхимы новообразованными клетками, где тироциты из стадии покоя переходят в стадию активного деления. Для оценки митотического деления клеток в основном использовался иммуногистохимический маркер Ki-67, который определялся во всех стадиях клеточного цикла за исключением G0 (период покоя). Известно, если ткань вовлекается в патологический процесс и клетки гибнут путем апоптоза, то это может привести к появлению ложноположительных результатов к Ki-67 [4].

В свою очередь, фосфорилированный гистон H3 (PHH3) является неспецифическим и более чувствительным маркером клеточной пролиферации, входит в состав хроматина нуклеосом и дает иммунопозитивное окрашивание в S фазу (синтетическую) цикла клеточного деления. Механизм действия PHH3 основывается на том, что он является одним из пяти гистоновых белков, где его фосфорилирование приводит не только к активации пролиферации клеток, но и неопластической трансформации ткани. Описано увеличение экспрессии данного маркера не только

при экспериментальной митогенной стимуляции, но и при влиянии стрессовых факторов, что не исключает его увеличение при хроническом хемоиндуцированном стрессе при воздействии ЭТС. Данный ядерный белок является одним из семейства гистонов, где наиболее важную роль играет N-концевой фрагмент, который подвергается эпигенетическим модификациям за счет метилирования и ацетилирования аминокислот, таких как лизин и аргинин, а также фосфорилирования серина и треонина.

В настоящее время семейство гистоновых белков активно изучается в аспекте использования цитостатических препаратов при разработке новых химиотерапевтических препаратов. Наряду с этим Ki-67 позволяет оценить индекс пролиферативной активности клеток, а также цитотоксичность различных факторов, что является актуальной проблемой при развитии синдрома ЭИ. Однако использование Ki-67 более подходит как скрининговый метод диагностики для патологических состояний, сопровождающихся процессами клеточной пролиферации.

#### ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Установить гистотопографические закономерности распределения иммунопозитивных клеток к основным маркерам пролиферативной активности клеток Ki-67 и PHH3.

#### МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

В рамках стандартного патологоанатомического исследования нами были отобраны летальные случаи, сопровождающиеся развитием синдрома ЭИ. Был проведен анализ историй болезни с подтвержденными клиничко-лабораторными данными печеночной или почечной недостаточности, в виду того, что данные органы осуществляют основную детоксицирующую функцию. Критериями исключения служили данные о травмах и операциях в области шеи, аутоиммунные заболевания, эндокринные заболевания. Материал, полученный от 40 лиц мужского пола в возрасте 35–60 лет, был подвергнут стандартному гистологическому исследованию с окраской гематоксилином и эозином.

В результате патологоанатомического исследования у ряда лиц были выявлены очаговые пролиферативные изменения ткани ЩЖ с формированием узловых образований.

В нескольких случаях (0,8 %) были выявлены доброкачественные образования ЩЖ на фоне цирроза

печени, в остальных случаях определялась гиперплазия тироцитов различной степени выраженности с формированием узловых образований. Так, условно

было произведено деление на верхнюю, среднюю и нижнюю части, а также на центральную и периферическую зоны (рис. 1).

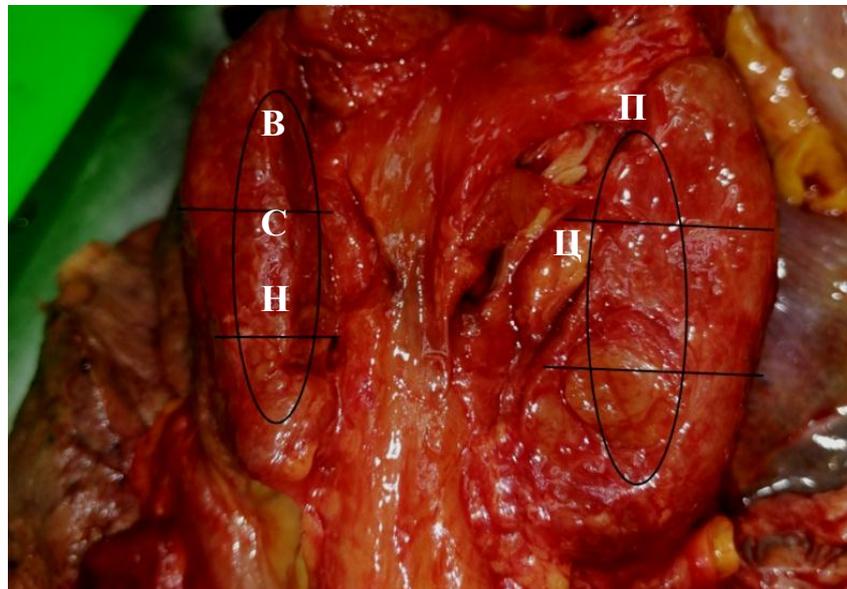


Рис. 1. Деление долей ЩЖ на верхнюю (В), среднюю (С), нижнюю (Н) части, а также на центральную (Л) и периферическую (П) зоны

Для оценки направленности пролиферативных процессов нами было произведено иммуногистохимическое исследование (ИГХ) ткани ЩЖ с использованием антител к PNH3 и Ki-67. Далее проводился сравнительный анализ экспрессии маркеров пролиферативной активности тироцитов с учетом зональности ткани ЩЖ.

Микрофотосъемка проводилась на микроскопе Leica DM1000. Статистический анализ включал расчет митотического индекса (МИ) тироцитов на основании подсчета иммунопозитивных клеток против PNH3 и Ki-67 в поле зрения к общему числу клеток в различных частях и зонах ЩЖ.

### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При сравнительном анализе гистологических изменений согласно частям и зонам ЩЖ было установлено, что наиболее часто узловое образование встречались в нижней части ЩЖ, имели смешанное строение, где обнаруживались крупные и мелкие фолликулы, выстланные кубическим эпителием.

Наряду с этим определялись мелкие фолликулы и наличие островков экстрафолликулярного эпителия (рис. 2Б). Несмотря на пролиферацию тироцитов и новообразование фолликулов, эпителий сохранял

кубическую форму, коллоид был гомогенным, фолликулы имели округлую форму, что соответствовало эутиреоидному состоянию.

При сопоставлении тканей центральной и периферической зон было выявлено, что наиболее выраженная пролиферация тироцитов наблюдалась в центральной зоне, по сравнению с периферической, при сохранении нормального строения ткани ЩЖ.

В средней части центральной зоны определялась микрофолликулярная трансформация, а по периферии в отдельных случаях определялись микроузловые образования смешанного типа строения.

В верхней части ткань ЩЖ сохраняла свою зональность, где на периферии определялись более крупные фолликулы по сравнению с центральной зоной.

При гистологическом исследовании верхней части центральной и периферической зон долей ЩЖ было установлено, что ткань имела смешанное строение, где на периферии отмечались более крупные фолликулы, заполненные гомогенным коллоидом, выстланные кубическим эпителием (рис. 2А).

Следует отметить, что ткань во всех случаях сохраняла свое строение в отличие от таковой в нижней части ЩЖ.

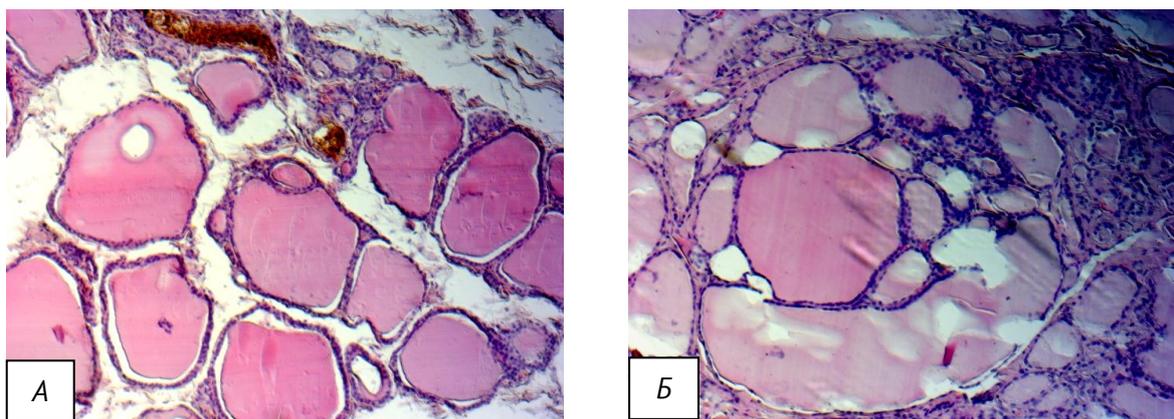


Рис. 2. А – периферическая зона верхней части доли ЩЖ; Б – микроузловое образование смешанного типа строения периферической зоны в нижней части ЩЖ. Окр. гематоксилином и эозином. Ув.  $\times 100$

При проведении ИГХ исследования было установлено, что наибольшее число иммунопозитивных клеток наблюдалось в нижней части ЩЖ в центральной зоне, что сопоставимо с данными гистологического исследования. Пролиферация тироцитов в средней части доли ЩЖ сопровождалась экспрессией иммунопозитивных клеток к PNH3 и Ki-67 (рис. 3).

В верхней части доли ЩЖ определялись единичные иммунопозитивные клетки, что свидетельствовало о процессах физиологического обновления клеток тиреоидной паренхимы.

При сравнении экспрессии PNH3 и Ki-67 в различных зонах и частях ЩЖ было установлено, что Ki-67 в значительно большей мере давал иммунопозитивное окрашивание, что связано, по-видимому, с тем, что данный фактор дает ложноположительные результаты при вовлечении клеток в процесс апоптоза. Так, при расчете МИ по данным ИГХ исследования было установлено, что МИ был выше в периферической зоне, чем в центральной, причем в верхней части доли не имел достоверных отличий от центральной и периферической зон (табл.).

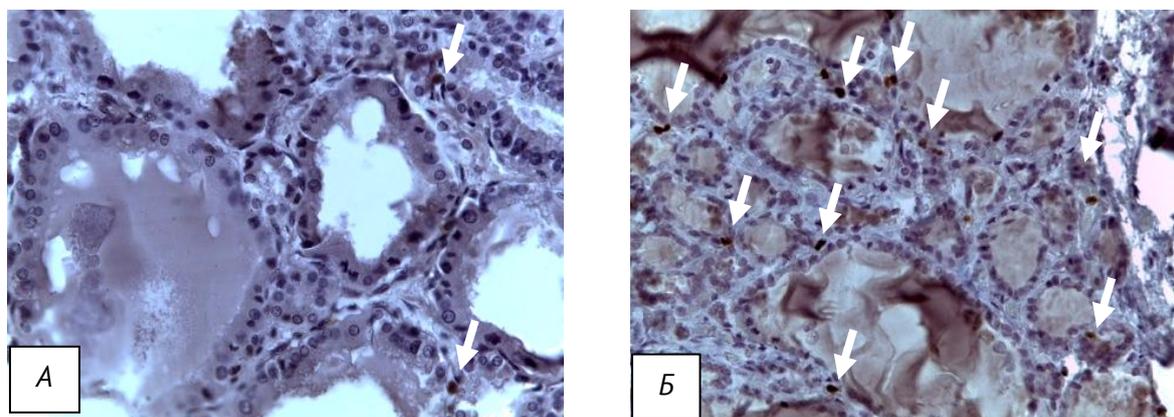


Рис. 3. А – экспрессия PNH3 в средней части доли ЩЖ; Б – экспрессия Ki-67 в средней части доли ЩЖ. Ув.  $\times 400$

Интервал пролиферативной активности тироцитов в центральной и периферической зонах увеличивался от средней к нижней части, что отражалось на экспрессии как PNH3, так и Ki-67.

При сопоставлении результатов ИГХ исследования данных маркеров пролиферативной активности было установлено, что достоверные отличия имелись во всех случаях, где Ki-67 по верхней части

центральной зоны превышал показатель PNH3 в 1,7 раза ( $p < 0,01$ ), по сравнению со средней частью.

Следует отметить, что отличия МИ PNH3 от Ki-67 в верхней части, по-видимому, связаны с тем, что происходит апоптоз клеток, что в меньшей степени вовлечено в патологический процесс, связанный с пролиферацией тироцитов нижней части.

Напротив, в средней и нижней части определяется одинаковая направленность в сторону увеличения

МИ по обоим маркерам, однако показатели МИ для Ki-67 оказались значительно ниже в 1,6 раза ( $p < 0,05$ ), по сравнению с РННЗ, что не отражает реальной картины пролиферативной активности клеток.

Экспрессия иммунопозитивных клеток к РННЗ и Ki-67 в различных участках ЩЖ,  $m \pm M$

Топографический участок	Показатель МИ, %	
	РННЗ	Ki-67
Верхняя часть		
центральная	3,71 ± 0,20	6,28 ± 0,30*
периферическая	3,470 ± 0,100	7,89 ± 0,30*
Средняя часть		
центральная	3,63 ± 0,20	2,44 ± 0,10*
периферическая	4,42 ± 0,20	4,5 ± 0,2
Нижняя часть		
центральная	43,1 ± 2,1	24,6 ± 1,2*
периферическая	51,15 ± 2,60	31,57 ± 1,50*

\*Достоверные отличия МИ между РННЗ и Ki-67 ( $p < 0,05$ ).

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, при сопоставлении экспрессии факторов пролиферации тироцитов при хронической ЭИ было установлено, что увеличение митотической активности клеток происходит зонально. При вовлечении в патологический процесс ткани ЩЖ пролиферация клеток более интенсивно идет в периферической зоне, в то время как в норме источником образования клеток и, соответственно, наиболее высокой митотической активностью обладают клетки центральной зоны. Гистотопографическое обоснование и выявление источников для новообразования клеток могут служить основой для онкологической настороженности и скринингового обследования пациентов при наличии синдрома хронической ЭИ.

## СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Варианты патологии щитовидной железы у пациентов с хроническим гепатитом С / М.А. Никонорова, Н.С. Лубская, Е.В. Волчкова [и др.] // Эпидемиология и инфекционные болезни. 2017. Т. 22 (4). С. 172–177.
2. Yang H., Xing R., Liu S., Li P. Effect of Fucoxanthin Administration on Thyroid Gland Injury Induced by

Cadmium in Mice // Biol Trace Elem Res. 2021. Vol. 199 (5). P. 1877–1884.

3. Alexander L.F., Patel N.J., Caserta M.P., Robbin M.L. Thyroid Ultrasound: Diffuse and Nodular Disease // Radiologic clinics of North America. 2020. Vol. 58 (6). P. 1041–1057.

4. Menon S.S., Guruvayoorappan C., Sakthivel K.M., Rasmi R.R. Ki-67 protein as a tumour proliferation marker // Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry. 2019. Vol. 491. P. 39–45.

## REFERENCES

1. Nikonorova M.A., Lubskaia N.S., Volchkova E.V. Thyroid pathology variants in patients with chronic hepatitis C. *Epidemiologiia i infeksionnyye bolezni = Epidemiology and infectious diseases*. 2017;22(4):172–177. (In Russ.)

2. Yang H., Xing R., Liu S., Li P. Effect of Fucoxanthin Administration on Thyroid Gland Injury Induced by Cadmium in Mice. *Biol Trace Elem Res*. 2021;199(5):1877–1884.

3. Alexander L.F., Patel N.J., Caserta M.P., Robbin M.L. Thyroid Ultrasound: Diffuse and Nodular Disease. *Radiologic clinics of North America*. 2020;58(6):1041–1057.

4. Menon S.S., Guruvayoorappan C., Sakthivel K.M., Rasmi R.R. Ki-67 protein as a tumour proliferation marker. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry*. 2019;491: 39–45.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

## Информация об авторах

**Людмила Викторовна Полякова** – кандидат медицинских наук, доцент, доцент кафедры анатомии, Волгоградский государственный медицинский университет, Волгоград, Россия, <http://orchid.org/0000-0002-5349-1435>, [lvpolyakova7@gmail.com](mailto:lvpolyakova7@gmail.com)

**Светлана Александровна Калашникова** – доктор медицинских наук, заведующий кафедрой анатомии, Волгоградский государственный медицинский университет, Волгоград, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-7688-9366>, [kalashnikova-sa@yandex.ru](mailto:kalashnikova-sa@yandex.ru)

**Михаил Владимирович Букатин** – кандидат медицинских наук, доцент кафедры фундаментальной медицины и биологии, Волгоградский государственный медицинский университет, Волгоград, Россия, <http://orcid.org/0000-0003-1031-0697>, [buspak76@mail.ru](mailto:buspak76@mail.ru)

**Леонид Сергеевич Быхалов** – доктор медицинских наук, профессор кафедры патологической анатомии, Волгоградский государственный медицинский университет, Волгоград, Россия, <https://orcid.org/0000-0003-2161-5189>, [leonby-vgd@yandex.ru](mailto:leonby-vgd@yandex.ru)

Статья поступила в редакцию 09.09.2022; одобрена после рецензирования 21.10.2022; принята к публикации 06.12.2022.

**The authors declare no conflicts of interests.**

*Information about the authors*

**Ludmila V. Polyakova** – Candidate of Medical Sciences, Associate Professor, Volgograd State Medical University, Volgograd, Russia, <http://orcid.org/0000-0002-5349-1435>, [lvpolyakova7@gmail.com](mailto:lvpolyakova7@gmail.com)

**Svetlana A. Kalashnikova** – Doctor of Medical Sciences, Associate Professor, Head of the Department for Anatomy, Volgograd State Medical University, Volgograd, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-7688-9366>, [kalashnikova-sa@yandex.ru](mailto:kalashnikova-sa@yandex.ru)

**Mikhail V. Bukatin** – Candidate of Medical Sciences, Associate Professor, Department of Fundamental Medicine and Biology, Volgograd State Medical University, Volgograd, Russia, <http://orcid.org/0000-0003-1031-0697>, [buspak76@mail.ru](mailto:buspak76@mail.ru)

**Leonid S. Bykhalov** – Doctor of Medical Sciences, Professor, Department of Pathological Anatomy, Volgograd State Medical University, Volgograd, Russia, <https://orcid.org/0000-0003-2161-5189>, [leonby-vgd@yandex.ru](mailto:leonby-vgd@yandex.ru)

The article was submitted 09.09.2022; approved after reviewing 21.10.2022; accepted for publication 06.12.2022.