

Безденежных А.В.

ФИБРОНЕКТИН ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ СОБАК ПРИ ДВИГАТЕЛЬНЫХ НАГРУЗКАХ

ФГБОУ ВО "Нижегородская государственная медицинская академия",

г. Нижний Новгород, Россия

Целью исследования является изучение фибронектина (ФН) щитовидной железы (ЩЖ) в ответ на различные виды двигательной активности. Работа выполнена на ЩЖ собак-самцов контрольной группы (16) и экспериментальных групп (67), которые имели различные режимы бега: кратковременные - несколько минут и длительные - несколько месяцев. Для выделения ФН применяли моноклональные антитела. После качественного анализа проводили оцифровку срезов правой доли органа и измеряли площадь фибронектина. Исследования выявили, что площадь ФН ЩЖ при тренирующих (однократных и многократных нагрузках длительностью от одного до трех месяцев) не отличается от группы контроля. При однократных нагрузках стартового характера с минимальным временем бега и предельных нагрузках с максимальным временем бега площади ФН были больше, чем в контрольной группе. В этих группах выявлена гиперемия сосудистого русла ЩЖ и признаки гиперфункции органа. При стартовых нагрузках объем ФН повышался за счет накопления интраваскулярной фракции, тогда как при предельных нагрузках его внутри- и межфолликулярное накопление, возможно, обусловлено активизацией тироцитов. Таким образом, фибронектин может служить отражением пролиферативной активности тироцитов, в том числе при двигательных нагрузках.

Ключевые слова: щитовидная железа, фибронектин, двигательная активность

Bezdenzhnykh A. V.

FIBRONECTIN OF THE THYROID GLAND IN DOGS AT PHYSICAL LOADS

Nizhny Novgorod State Medical Academy, Nizhny Novgorod, Russia

The aim of the study is fibronectin (FN) in the thyroid gland (TG) after various physical activity. The control thyroid-intact male dogs (16) have no running. Six experimental groups include 67 dogs with different models of running (from a few minutes to a few months). Monoclonal antibodies were used to isolate FN. Sections of the right lobe of TG were digitizing and areas were measured after qualitative analysis. Areas of FN after single loads with middle running time and multiple loads (from one to three months) did not differ significantly from the control. Areas of FN in two groups (single loads with minimum running time and single loads with maximum running time) were more than in the control group and they are significantly different from each other. The vascular supply of TG increased; morphologic signs of thyroid proliferation were present at dogs of these groups. Accumulation of intravascular faction of FN was recognized at the single loads with minimum running time. Accumulation of interfollicular and intrafollicular factions of FN was found at the single loads with maximum running time, it is possible due to the activation of thyrocytes. Thus, fibronectin can serve as a reflection of proliferative activity of thyrocytes after the muscle loads.

Keywords: thyroid gland, fibronectin, physical loads

Введение. Строма ЩЖ состоит из рыхлой волокнистой соединительной ткани, которую формируют четыре основных типа клеток и внеклеточный матрикс (ВКМ), сетчатые адгезивные белки которого – ламинин и фибронектин [1]. Фибронектин (ФН) представлен в виде двух форм: растворимой (циркулирующей в плазме крови и синтезируемой гепатоцитами) и нерастворимой [2]. Нерастворимая форма ФН в ЩЖ присутствует в интерцеллюлярном матриксе: базальной мембране, местах межклеточных контактов, интерфолликулярном стромальном каркасе и в стенке сосудов органа [3]. ФН регулирует рост, организацию, пролиферацию и апоптоз клеток, участвует в восстановлении целостной структуры тканей, влияет на ремоделирование сосудов и плотность иннервации, оказывает стимулирующее действие на фибробласты, усиливая их миграцию и активируя синтез коллагена.

Цель исследования – изучение площади нерастворимой фракции фибронектина щитовидной железы собак при различных видах двигательных нагрузках как отражение морфологических проявлений функциональной активности органа.

Материалы и методы исследования. Объектом исследования являлись щитовидные железы собак-самцов. Измерения проводили на поперечном срезе центральной части правой доли ЩЖ (фиксатор 10% нейтральный формалин) после иммуногистохимической окраски фибронектина (моноклональные антитела к фибронектину человека, Dako Inc.). При данном методе окрашиванию подвергались базальная мембрана, места межклеточных контактов, интерфолликулярный стромальный каркас и строма сосудов органа.

Контрольная группа представлена 16 животными. Экспериментальная группа получала кратковременные и длительные нагрузки при динамическом контроле частоты сердечных сокращений (ЧСС). Однократные нагрузки представлены тремя видами воздействий: тренирующего характера (нагрузки первого этапа), стартового характера (нагрузки второго этапа) и предельными нагрузками (8 животных, 12 животных, 14 животных соответственно).

Многokратные воздействия были в виде циклов тренировки, каждый из которых состоял из тренирующих (первый этап) и стартовых нагрузок (второй этап) и представлены тремя группами. Первая группа – 12 животных после первого этапа тренирующих индивидуально дозированных двигательных нагрузок (ИДДН) получали воздействия стартового характера. Во второй группе у 10 собак тренирующими нагрузками и стартовыми ИДДН моделировали последовательно три цикла воздействий. В третьей группе у 11 животных формировали четыре цикла.

Захват кадров осуществляли на микроскопе «Leica DMLS» камера «CCB Camera DIGITAL Kocom» (увеличение 400). В программе Adobe Photoshop была произведена обработка фотографий с удалением артефактов и элементов, находящихся за пределами интерфолликулярных септ. В программе Image Tools после предварительной геометрической калибровки и бинаризации изображения измерялась площадь, занимаемая ФН. На основе данных описательной статистики и U-критерия Манна—Уитни в программе AnalystSoft Inc., StatPlus, версия 6 (www.analystsoft.com) проводили сравнение групп.

Результаты исследования и их обсуждение. Выделить принципиальные особенности фибронектин–позитивной реакции стромы ЩЖ, характерной для животных какой-либо из описываемых групп, не представляется возможным. Общей тенденцией было наличие, как правило, замкнутого, непрерывного контура возле фолликулов небольшого диаметра в отличие от крупных и средних фолликулов, где он имел неравномерный прерывистый характер с местами истончения, что могло быть связано с общей протяженностью длины окружности этих фолликулов. Для сосудистого русла было характерно увеличение площади ФН в стенке сосудов различного диаметра при их гиперемии.

Средняя частоты сердечных сокращений контрольной группа составила $125 \pm 6,92$ ударов в минуту. Площадь фибронектина была $99,62 \pm 7,09$ μm^2 .

Однократные воздействия. При нагрузках тренирующего характера определена ЧСС на уровне $205 \pm 10,15$ уд/мин и время бега $27,76 \pm 4,67$ мин. При

нагрузках стартового характера, незначительные по продолжительности (время бега $8,25 \pm 0,73$ мин), ЧСС достоверно не отличалась от предыдущей группы ($201 \pm 13,47$ уд/мин). У животных с предельными нагрузками (бег «до отказа») среднее время бега составило $73,14 \pm 14,97$ мин, средняя ЧСС во время бега – $191 \pm 6,41$ уд/мин. Площадь ФН при однократных нагрузках тренирующего характера составила $90,93 \pm 5,33$ мкм², стартового характера – $308,14 \pm 18,45$ мкм², (отличие от контроля достоверно, $p < 0,05$), предельных нагрузках – $125,45 \pm 10,04$ мкм² (отличие от контроля достоверно, $p < 0,05$).

Известно, что временной диапазон сборки матрицы фибронектина – 10 минут [5]. Вероятно, при нагрузках стартового характера с небольшим временем бега увеличение ФН может происходить за счет накопления интраваскулярной фракции и локализации в составе сосудистой стенки обсуждается в работах ряда авторов [3, 4].

Мы полагаем, что при предельных нагрузках (стресс-реакция) увеличение площади ФН может быть обусловлено активизацией тироцитов, вызванной избирательным стимулированием сывороткой крови синтеза и накопления нерастворимого фибронектина в ЩЖ.

Многokратные воздействия. Для первой группы животных (первый цикл воздействий) общее количество нагрузок было 22-24, среднее время бега на первом этапе составило $45,64 \pm 1,83$ мин, средняя ЧСС – $169 \pm 1,85$ уд/мин, на втором этапе $11,81 \pm 0,38$ мин и $168 \pm 3,30$ уд/мин соответственно.

Во второй группе животных третий цикл воздействий (общее количество нагрузок 53-58) привел к росту времени бега до $64,02 \pm 3,4$ мин и поддержанию средней ЧСС на уровне $168 \pm 2,35$ уд/мин, при этом использовано 8-9 стартовых нагрузок со средним временем бега $10,4 \pm 0,27$ мин и ЧСС $172 \pm 2,38$ уд/мин.

В третьей группе четвертый цикл воздействий (общее количество нагрузок 68-73) характеризовался некоторым возрастанием времени бега до $71,3 \pm 2,56$ мин при средней ЧСС $173,59 \pm 2,56$ уд/мин. Среднее время бега при стартовых нагрузках составляло $9,85 \pm 0,25$ мин, ЧСС $183,33 \pm 2,57$ уд/мин.

В первой экспериментальной группе площадь фибронектина была

88,26±5,21 мкм²; во второй группе – 99,55±7,67 мкм²; в третьей группе – 102,51±4,61 мкм² (достоверных отличий от контроля не выявлено).

Возможно, нагрузки тренирующего характера приводят к интеграции элементов стромы щитовидной железы, поэтому такой режим бега не оказывает влияния на объем, занимаемый фибронектином в органе.

Выводы. Таким образом, фибронектин, который традиционно рассматривается как маркер процессов новообразований щитовидной железы, может служить отражением и других изменений пролиферативной активности тироцитов.

Литература:

1. Kierszenbaum AL, Tres L. Histology and Cell Biology: An Introduction to Pathology [Internet]. Elsevier Health Sciences; 2015 [cited 2016 Jun 6]. 720 p. **URL:** <https://books.google.com/books?id=i-lyCQAAQBAJ&pgis=1>
5. Graninger W, Pirich K, Derfler K, Waldhäusl W. Plasma fibronectin and thyroid function. J Clin Pathol [Internet]. BMJ Group; 1985 Jan [cited 2016 Jul 20];38(1):64–7. **URL:** <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC499073>
6. Murphy PA, Hynes RO. Alternative splicing of endothelial fibronectin is induced by disturbed hemodynamics and protects against hemorrhage of the vessel wall. Arterioscler Thromb Vasc Biol [Internet]. 2014 Sep [cited 2016 Jul 20]; 34(9):2042–50. **URL:** <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC4140979>. **DOI:** [10.1161/ATVBAHA.114.303879](https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.114.303879)
7. Usenko VS, Lepekhin EA, Kornilovska IN, Lyzogubov VV, Apostolov EO, Ralets IS, et al. Immunohistochemical study of fibronectin and thyroglobulin in the thyroid gland of female rats after exposure to radioactive iodine. Anat Rec [Internet]. Wiley Subscription Services, Inc., A Wiley Company; 1998 Dec [cited 2016 Oct 10];252(4):600–7. **URL:** <http://doi.wiley.com/10.1002/%28SICI%291097-0185%28199812%29252%3A4%3C600%3A%3AAID-AR10%3E3.0.CO%3B2-E> **DOI:** [10.1002/\(SICI\)1097-0185\(199812\)252:4<600::AID-AR10>3.0.CO;2-E](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0185(199812)252:4<600::AID-AR10>3.0.CO;2-E)
8. To WS, Midwood KS, Lorenz H, Longaker M, Midwood K, Williams L, et al. Plasma and cellular fibronectin: distinct and independent functions during tissue repair. Fibrogenesis Tissue Repair [Internet]. BioMed Central; 2011 [cited 2016 Sep 6];4(1):21. **URL:** <http://fibrogenesis.biomedcentral.com/articles/10.1186/1755-1536-4-21>. **DOI:** [10.1186/1755-1536-4-21](https://doi.org/10.1186/1755-1536-4-21)