

Сведения об авторе:

Максимов Александр Геннадьевич, кандидат сельскохозяйственных наук, доцент кафедры разведения, селекции и генетики сельскохозяйственных животных ФГБОУ ВПО «Донской государственный аграрный университет»; д. 3-а, кв-2, ул. Мичурина, п. Персиановский, Октябрьский (с) район, Ростовская область, Россия 346493; Тел. домашний – 89889903423, рабочий – 88636036848; E-mail: MaksimoVVV2014@mail.ru

Author affiliation:

Alexander Maksimov, Candidate of agricultural sciences, assistant professor of breeding, breeding and genetics of farm animals VPO «Don State Agrarian University»; d. 3 and KV-2 st. Michurina n. Persianovsky October (s) district, Rostov region. Russia 346493; E-mail: MaksimoVVV2014@mail.ru Tel. house. - 89889903423, work - 88636036848

УДК 591.8+619

Мужикян А.А.

ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ И МОРФОЛОГИЯ С-КЛЕТОК ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ СВИНЕЙ

Ключевые слова: щитовидная железа, С-клетки, свинья, иммуногистохимия, кальцитонин, нейрон-специфическая енолаза, синаптофизин

Резюме: Проведено иммуногистохимическое исследование С-клеток щитовидной железы (ЩЖ) свиней разных возрастных групп с выявлением экспрессии кальцитонина (CAL), нейрон-специфической енолазы (NSE), синаптофизина (SYN). Определены основные морфометрические показатели С-клеточной популяции, включающие среднее число С-клеток в поле зрения, среднюю площадь CAL-положительного материала в поле зрения, среднюю площадь NSE-положительного материала в поле зрения, среднюю площадь одной С-клетки с экспрессией кальцитонина, средний диаметр ядра С-клеток (СДК), индекс функциональной активности С-клеток (ИФА). Морфометрическое исследование и статистический анализ изученных показателей позволил выявить некоторые видовые особенности, не описанные для других животных. Количество С-клеток в ткани ЩЖ свиней на ранних этапах онтогенеза не претерпевало существенных изменений. В возрасте 4-5 дней отмечено увеличение площади CAL-положительного материала в ткани ЩЖ поросят и статистически значимое снижение ее к 8-10 дню жизни. Отмечено, что снижение экспрессии кальцитонина сопровождалось увеличением числа клеток, позитивно окрашивающихся на NSE. На всех изученных сроках площадь С-клеток существенно не отличалась. СДК возрастал к 4-5 дню жизни и снижался к 1,5-2 годам. Установлено, что наряду с С-клетками, содержащими небольшие, богатые эухроматином ядра, обнаруживались многочисленные клетки с пикнотичными гиперхромными ядрами, показывающими также положительное окрашивание на кальцитонин, NSE, синаптофизин и, в некоторых случаях, на виментин. Гиперхромные ядра встречались в С-клетках вне зависимости от степени накопления гранул или дегрануляции, и, таким образом, не были связаны с функциональной активностью указанных клеток, что позволяет предположить наличие в ЩЖ свиней особой популяции С-клеток или особого пути развития типичной С-клеточной популяции.

Введение

Несмотря на многочисленные исследования, посвященные морфологии щитовидной железы (ЩЖ) свиней в норме и патологии [3, 5, 11, 12], в современной отечественной и зарубежной литературе встре-

чается небольшое количество работ, в которых уделяется внимание морфофункциональному состоянию парафолликулярных (или интерфолликулярных) С-клеток. Между тем особенности строения и гистогенеза С-клеток ЩЖ вызывают на сегодня

няшний день особый интерес.

Принято считать, что С-клетки отличаются от тироцитов формой, размерами, расположением в паренхиме ЩЖ и происхождением [4, 18, 24]. Они играют ключевую роль в поддержании кальциевого гомеостаза. Известно, что деятельность С-клеток сопряжена с секрецией тиреокальцитонина, серотонина и других биогенных аминов [9]. Установлено паракринное влияние гормонов интерфолликулярных клеток в отношении фолликулярных эпителиоцитов. С-клетки являются частью APUD-системы, в связи с чем, могут становиться источником развития медуллярной карциномы ЩЖ [10].

Сведения о морфологии С-клеток ЩЖ свиней немногочисленны. Первые упоминания о С-клетках в ЩЖ свиней встречаются в ранних исследованиях Watzka (1934) и Hargis (1965), однако строение обнаруженных клеток было описано нечетко [15]. Позднее С-клетки ЩЖ свиней были изучены Bussolati и Pearse (1967). Так, С-клетки, выявленные при помощи иммунофлуоресцентного метода, имели в основном эпителиофолликулярное расположение, удлинненную, а иногда пирамидальную форму, а не классическую овальную или округлую, как это было описано ранее у собак [14]. Bussolati и Pearse обнаружили экспрессию кальцитонина в отдельных клетках и группах клеток ЩЖ свиней, морфологически напоминающих перicyты, и содержащих в высокой степени β -глицерофосфат-дегидрогеназу (Pearse, 1966). Указанные клетки находились в тесной взаимосвязи с С-клетками, располагались между капиллярной стенкой и плазмолеммой С-клеток и могли играть роль в передаче кальцитонина из С-клеток в кровотоки [14]. Нужно отметить, что в дальнейших работах по изучению ультраструктуры С-клеток ЩЖ свиней клетки, обнаруженные Bussolati и Pearse, описаны не были [16, 17]. В исследованиях Carvalho и Pearse (1967) также были отмечены морфологические отличия С-клеток ЩЖ свиней от таковых у других видов животных, а также отсутствие в С-клетках свиней холинэстеразы [15]. Межвидовые морфологические и гистохимические различия для С-клеток ЩЖ свиней были описаны и в более поздних работах [13, 20, 21]. Однако, исследования Tsuchiya и соавторов (1984) показали, что С-клетки в ЩЖ свиней, как и других животных, встречались преимущественно в центральных участках железы, а распределение клеток в тироидной

ткани соответствовало таковому у собак, кошек, человека, крысы, морской свинки и мыши [25].

Остается неясным и происхождение С-клеток. Считается, что С-клетки млекопитающих имеют нейроэктодермальное происхождение [18, 24]. В то же время, последние работы по изучению культур клеток ЩЖ свиньи показали возможность дифференцировки клеток, полученных из ЩЖ в нейрональном направлении, в ряде случаев с экспрессией β -III-тубулина [3, 19, 23]. Однако соответствие полученных клеток истинным С-клеткам показано не было [3].

Таким образом, становится очевидным, что для понимания вопросов физиологии и гистогенеза С-клеточной популяции ЩЖ свиней необходимы новые всесторонние исследования с применением современных методов гистологической, цитологической обработки материала и анализа данных.

Цель исследования

Целью исследования явилось изучение особенностей морфологии С-клеток щитовидной железы свиней в разные периоды онтогенеза с применением иммуногистохимических методов.

Материалы и методы

Гистологическому и морфометрическому исследованию были подвергнуты ЩЖ свиней породы Ландрас в разные периоды онтогенеза: новорожденных поросят ($n=10$), поросят в возрасте 4-5 дней ($n=7$), 8-10 дней ($n=5$), 30-35 дней ($n=5$), свиней в возрасте 1,5-2 года ($n=5$). Материал отбирался на свиноподкомплексе «Рюрик-Агро» (Ленинградская область, Тосненский район, деревня Нурма). Возраст исследованных животных определялся согласно инвентарным книгам учета ветеринарных врачей хозяйства.

Для проведения иммуногистохимических (ИГХ) реакций материал фиксировали в спирт-формалине с цинком [6]. С-клетки выявляли иммунопероксидазным методом с помощью ИГХ-реакции на кальцитонин (CAL), нейрон-специфическую енолазу (NSE), синаптофизин (SYN). Для постановки ИГХ-реакции на кальцитонин, NSE, синаптофизин использовали поликлональные кроличьи антитела (Dako, Дания). В качестве вторичных реагентов для реакции на синаптофизин применяли реактивы из набора Polymer HRP Detection Kit Spring Bio (Genex, США). Для кальцитонина и NSE применяли

EnVision+System Labeled Polymer-HRP Anti-Rabbit (Dako, Дания). С целью выявления межклеточных и внутритканевых взаимоотношений, а также для оценки соединительнотканной стромы органа, проводили импрегнацию ткани ЩЖ солями серебра, с выявлением коллагеновых и ретикулярных волокон (Bio Optica, Италия).

Морфологическое исследование гистологических препаратов проводилось при помощи светооптического микроскопа Carl Zeiss (Германия) при увеличении 50, 100, 200, 400 и 1000. Микрофотографирование проводили при помощи цифровой фотокамеры Axio Scope A1 (Германия). Морфометрические измерения проводили полуавтоматически и вручную с помощью программного обеспечения AxioVision Rel. 4.8. и редактора изображений PhotoM 1.21. Площади структур определяли при помощи бинаризации изображений [1] с дальнейшей обработкой в редакторе PhotoM 1.21.

Морфометрическое исследование состояния С-клеточной популяции включало измерение абсолютного и среднего количества С-клеток на условную единицу площади при увеличении 200–78485,34 мкм² (324.0х242.0 мкм), среднюю площадь иммунореактивных клеток (мкм²) с экспрессией кальцитонина (определяли площадь одной С-клетки), среднюю площадь иммунореактивной ткани (мкм²) с экспрессией кальцитонина (SCAL+) и нейронспецифической енолазы (SNSE+) в поле зрения, средний диаметр карiona (СДК) и индекс функциональной активности С-клеток (ИФА) [2, 4].

Полученные данные были подвергнуты статистическому анализу. Для всех данных применена описательная статистика: данные проверены на соответствие нормальному закону распределения с помощью критерия Шапиро-Уилка. Подсчитаны среднее значение и стандартная ошиб-

ка среднего, которые вместе со значением p представлены в итоговых таблицах. Межгрупповые различия анализировали однофакторным дисперсионным анализом (ANOVA) с апостериорным критерием Тьюки (табл. 1). Различия определены при уровне значимости $p < 0,05$. Статистический анализ выполняли с помощью программного обеспечения Statistica 6.0 (StatSoft, Россия).

Результаты и обсуждение

С целью изучения морфологии С-клеток ЩЖ свиней разных возрастных групп было проведено морфометрическое исследование ряда показателей, характеризующих состояние С-клеточной популяции. Полученные результаты были подвергнуты дальнейшей статистической обработке. Дисперсионный анализ выявил влияние фактора «возраст» на все исследуемые параметры (таблица 1).

Последующее межгрупповое сравнение по критерию Тьюки показало статистически значимое отличие ряда морфометрических показателей С-клеток ЩЖ свиней исследуемых возрастных групп (таблица 2).

ИГХ окрашивание на кальцитонин, NSE, синаптофизин показало наличие функционально активных С-клеток в ЩЖ свиней всех исследованных возрастных групп.

С-клетки ЩЖ новорожденных поросят характеризовались небольшими размерами, отростчатой или веретеновидной формой с зернистой цитоплазмой и центрально расположенными светлыми округлыми ядрами. С-клетки располагались как одиночно, так и группами по 3–5 клеток, в составе фолликулярного эпителия и в межфолликулярных пространствах. Интересно отметить, что среди CAL+ С-клеток встречались особые клетки с темными гиперхромными ядрами, диаметр которых не

Таблица 1. Результаты статистической обработки данных о влиянии возраста на оцениваемые параметры (дисперсионный анализ)

Показатель	Значение F –критерия	Значение p
Количество С-клеток в поле зрения	$F_{4,91}=14,3$	$<0,05$
SCAL+материала в поле зрения	$F_{4,91}=16,88$	$<0,05$
S _{NSE+} материала в поле зрения	$F_{4,27}=7,77$	$<0,05$
S одной С-клетки	$F_{4,91}=5,13$	$<0,05$
СДК	$F_{4,91}=40,41$	$<0,05$
ИФА С-клеток	$F_{4,91}=30,95$	$<0,05$

Таблица 2. Морфометрические показатели С-клеток щитовидной железы свиней разных возрастных групп (данные представлены как $M \pm m$)

		Кол-во С-кл. в поле зрения, ув.200	S _{CAL+} материала в поле зрения, мкм ² ув.200	S _{NSE+} материала в поле зрения, мкм ² ув.200	S одной С-кл, с положительной реакцией на Cal, мкм ²	СДК	ИФА С-клеток
1	Новорожд. (n=10)	52,3±2,24	1524,5 ± 61,58	555,58 ± 57,59	29,4±0,59	5,1±0,12	13,4±0,63
2	4-5 дн. (n=7)	53,7±1,83	1705,2 ± 45,35*	544,55 ± 33,68*	32,1±0,72 •	6,6±0,16 *	17,6±0,64*
3	8-10 дн. (n=5)	48,4±1,90	1358,8 ± 47,09	898,90 ± 127,83*	28,3±0,75	6,3±0,20 *	15,4±0,98
4	30-35 дн. (n=5)	37,3±1,11 *•	1098,5 ± 52,38*	913,47 ± 114,15*	29,6±1,27	5,2±0,11 •	9,7±0,29*•
5	Свиньи 1,5-2 года (n=5)	35,2±2,85 *•	1147,1 ± 75,66*	1001,74 ± 80,84 *	33,4±1,26 *•	4,3±0,10 *•	7,6±0,71*•

Примечание - *•p<0,05, статистически значимое отличие от новорожденных поросят (2 группа), тест Тьюки

•p<0,05, статистически значимое отличие от поросят в возрасте 8-10 дней (3 группа), тест Тьюки

превышал 3-4 мкм (рис. 1, 2). В цитоплазме таких клеток определялось большое количество CAL+ гранул, но также встречались клетки с высокой степенью дегрануляции. Указанные клетки в ЩЖ новорожденных поросят составляли порядка 10-15% от всех CAL+ клеток, также показывали положительное окрашивание на NSE и синаптофизин, что позволяет отнести их к С-клеточной популяции. При дополнительном ИГХ окрашивании на виментин, указанные интерфолликулярные клетки, в отличие от других клеток ткани ЩЖ, давали положительную реакцию (рис. 6).

У 4-5 дневных поросят отмечалось статистически значимое увеличение ИФА С-клеток по сравнению с новорожденными животными. Увеличивалась площадь CAL+ материала в ткани железы, возрастал СДК парафолликулярных клеток. С-клетки, содержащие гиперхромные ядра, в данной возрастной группе встречались реже, чем у новорожденных поросят (рис. 3). Обнаруженные С-клетки име-

ли тесную связь с фолликулярными эпителиоцитами, были окружены по периферии тонкими тяжами ретикулярных и коллагеновых волокон, формирующих межфолликулярную соединительную ткань (рис. 4).

К 8-10 дню жизни происходило снижение количества С-клеток в поле зрения, снижалась площадь CAL+ материала в ткани ЩЖ, главным образом за счет высокой степени дегрануляции С-клеток (рис. 5). В пользу последнего говорит увеличение площади NSE+ материала, по сравнению с 4-5 дневными поросятами. Нужно отметить, что на данном этапе основная тиреоидная ткань претерпевала некоторые изменения: отмечалось существенное увеличение диаметра фолликулов, высоты фолликулярного эпителия, значительно возрастала пролиферативная активность железы и степень васкуляризации тиреоидной ткани по сравнению с новорожденными и 4-5 дневными поросятами. В совокупности данные признаки могли указывать на возникновение к 8-10 дням жизни

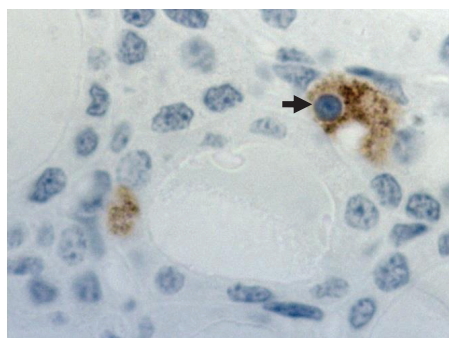


Рис. 1. Срез ЩЖ новорожденного поросенка. ИГХ-реакция на кальцитонин. Продукты реакции окрашены в коричневый цвет. Увеличение 1000

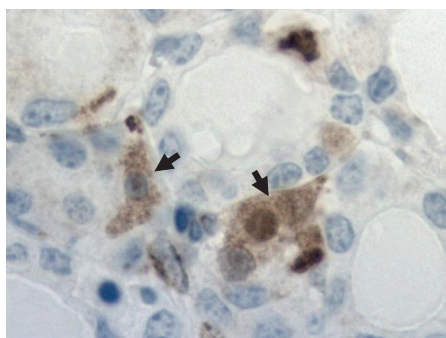


Рис. 2. Срез ЩЖ новорожденного поросенка. ИГХ-реакция на NSE. Продукты реакции окрашены в коричневый цвет. Увеличение 1000

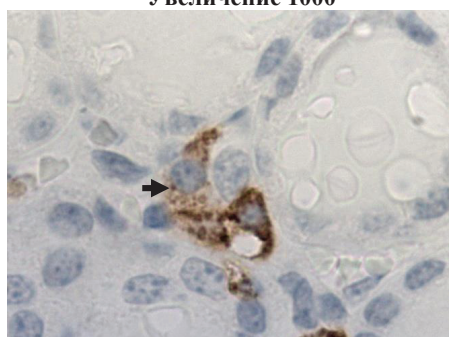


Рис. 3. Срез ЩЖ 4 дневного поросенка. ИГХ-реакция на кальцитонин. Продукты реакции окрашены в коричневый цвет. Увеличение 1000

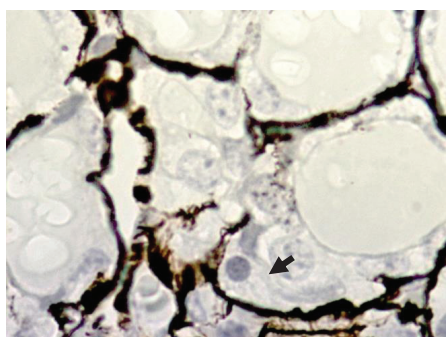


Рис. 4. Срез ЩЖ 4 дневного поросенка. Импрегнация солями серебра с выявлением аргентофильных волокон. Продукты гистохимической реакции окрашены в черный цвет. Увеличение 1000

свиней одного из критических периодов развития ЩЖ.

У 30-35 дневных поросят отмечалось увеличение количества С-клеток в поле зрения, снижалась площадь CAL+ материала в ткани ЩЖ и возрастало число клеток, экспрессирующих NSE. Выявлялось резкое снижение показателей ИФА и СДК С-клеток, причем значительно возрастало количество парафолликулярных клеток с темными гиперхромными ядрами в разной стадии накопления и выделения синтезированных продуктов (рис. 7).

В ЩЖ свиней в возрасте 1,5-2 года отмечалась слабо выраженная гиперплазия С-клеток, носящая, в основном, очаговый характер. Участки с большим количеством кальцитониноцитов встречались, в основном, в центральной зоне. С-клетки располагались одиночно и группами, окружали фолликулы по периферии, однако не формировали самостоятельных фолликулов или фолликулоподобных структур. Обра-

щало на себя внимание резкое снижение СДК парафолликулярных клеток, причем количество С-клеток, содержащих гиперхромные ядра, достигало половины из всех, дающих положительное окрашивание на кальцитонин. ИФА С-клеток, также был ниже, чем в других возрастных группах (рис. 8).

Заключение

Проведенный ИГХ анализ ткани ЩЖ свиней разных возрастных групп позволил выявить некоторые видовые особенности, не описанные для других животных. Количество С-клеток в ткани ЩЖ свиней на ранних этапах онтогенеза не претерпевало существенных изменений. В возрасте 4-5 дней отмечено увеличение площади CAL+ материала в ткани ЩЖ поросят и статистически значимое снижение ее к 8-10 дню жизни. Причем снижение экспрессии кальцитонина сопровождалось увеличением числа клеток, позитивно окрашиваю-

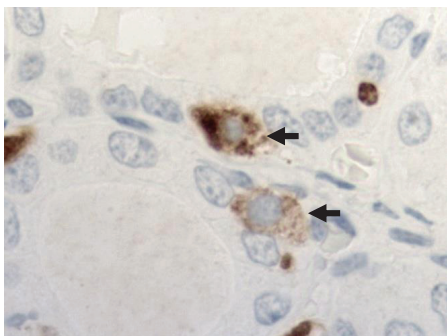


Рис. 5. Срез ЩЖ 10 дневного поросенка. ИГХ-реакция на кальцитонин. Продукты реакции окрашены в коричневый цвет. Увеличение 1000

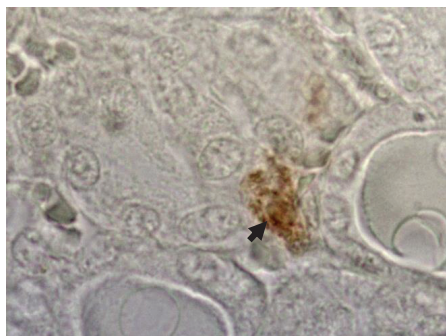


Рис. 6. Срез ЩЖ 10 дневного поросенка. ИГХ-реакция на виментин. Продукты реакции окрашены в коричневый цвет. Увеличение 1000

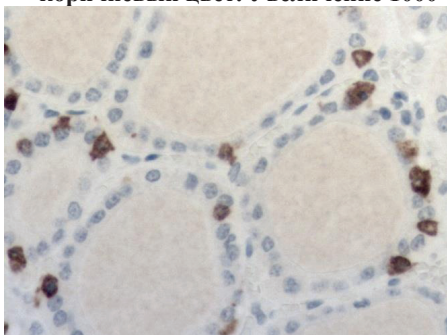


Рис. 7. Срез ЩЖ 30 дневного поросенка. ИГХ-реакция на кальцитонин. Продукты реакции окрашены в коричневый цвет. Увеличение 400

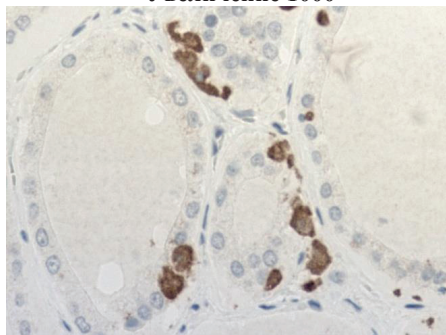


Рис. 8. Срез ЩЖ свиньи в возрасте 1,5 года. ИГХ-реакция на кальцитонин. Продукты реакции окрашены в коричневый цвет. Увеличение 400

щихся на NSE, что могло говорить о высокой степени дегрануляции С-клеток, а значит и функциональной активности кальцитониноцитов. На всех изученных сроках площадь С-клеток существенно не отличалась, а диаметр ядер был сопоставим с таковым у тироцитов. Важно, что среди С-клеток, содержащих небольшие, богатые эухроматином ядра, обнаруживались многочисленные клетки с пикнотичными гиперхромными ядрами, показывающими также положительное окрашивание на кальцитонин, NSE, синаптофизин и в некоторых случаях на виментин. Известно, что экспрессия виментина характерна для клеток мезодермального происхождения, а также для мезенхимных опухолей. Так, например, при ИГХ исследовании гемангиоперицитом виментин определяется во всех случаях [7]. Однако локализация обнаруженных нами клеток, их размеры и форма ядра не позволяют отнести их к перицитам, как предлагалось в ранних исследованиях

Bussolati и Pearse [14]. В то же время, согласно данным Miettinen (2010) некоторые эпителиальные клетки (например, клетки фолликулов ЩЖ, желез эндометрия и др.) также содержат виментин, часто в базальной части цитоплазмы, а многие карциномы ЩЖ показывают переменную положительную экспрессию данного белка [22]. Наличие гиперхромных ядер в С-клетках ЩЖ свиней могло указывать на снижение синтетических процессов в клетке, например вследствие избыточного накопления синтезированных продуктов или после дегрануляции клеток. Однако гиперхромные ядра встречались в С-клетках вне зависимости от степени накопления гранул или дегрануляции, и, таким образом, не были связаны с функциональной активностью указанных клеток, что позволяет предположить наличие в ЩЖ свиней особой популяции С-клеток или особого пути развития типичной С-клеточной популяции.

Библиографический список:

1. Абламейко С.В., Недзведь А.М. Обработка оптических изображений клеточных структур в медицине / С.В. Абламейко, А.М. Недзведь // – Мн.: ОИПИ НАН Беларуси, 2005. – 156 с.
2. Автандилов Г.Г. Медицинская морфометрия / Г.Г. Автандилов // – М.: Медицина, 1990. – 284 с.
3. Биливская С.Б., Божок Г.А., Легач Е.И., Боровой И.А., Гелла И.М., Малукин Ю.В., Бондаренко Т.П. Характеристика первичной культуры клеток из неонатальной щитовидной железы свиней: фолликулогенез, гормональная и ростовая активность / С.Б. Биливская, Г.А. Божок, Е.И. Легач, И.А. Боровой, И.М. Гелла, Ю.В. Малукин, Т.П. Бондаренко // Цитология. - 2013. - Т. 55. - № 7. - С. 482-491.
4. Волков В.П. Функциональная морфология С-клеток щитовидной железы в возрастном аспекте /В.П. Волков // XXXIV международная научно-практическая конференция - Инновации в науке. Сборник научных трудов. - Новосибирск: СибАК, - 2014. - № 6 (31). - С. 78-90.
5. Животова Т.Ю. Развитие щитовидной и зобной желез у свиней различных пород и помесей /Т.Ю. Животова // Международная научно-практическая конференция - Инновационные пути развития АПК: проблемы и перспективы Сборник научных трудов в 4 томах. - п. Персиановский, - 2013. - С. 113-115.
6. Коржевский Д.Э. Теоретические основы и практическое применение методов иммуногистохимии / Д.Э. Коржевский // - СпецЛит, 2010. - 124 с.
7. Кузьмин И.В. Онкология легких. Монография. [Электронный ресурс] Режим доступа: <http://www.remedium.ru/drugs/doctor/oncology/detail.php?ID=17634> (последняя дата обращения 12.01.2015)
8. Лежнина М.Н., Муллакаев А.О., Блинова А.Д. Онтогенетические особенности структурно-функционального состояния щитовидной железы у свиней в условиях применения отечественных биопрепаратов / М.Н. Лежнина, А.О. Муллакаев, А.Д. Блинова // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. - 2012. - Т. 209. - С. 198-202.
8. Лычкова А.Э. // Нервная регуляция функции щитовидной железы / А.Э. Лычкова // Вестник РАМН. Актуальные вопросы патофизиологии, - 2013. - №6 - С. 49-55
9. Пальцев М.А., Кветной И. М. Руководство по нейроиммуноэндокринологии / М.А. Пальцев, И.М. Кветной // 2-е изд М.: 0А0 «Издательство «Медицина», 2008. — 512 с.
10. Пилов А.Х. К вопросу о трансформации щитовидной железы свиней / А.Х. Пилов // Межвузовская научно-практическая конференция, посвященная 75-летию первого ректора КБГСХА, доктора биологических наук, профессора, Заслуженного деятеля науки РФ, КБР, Республики Адыгея Фиапшева Бориса Хамзетовича Главный редактор Б. Х. Жеруков. - 2011. - С. 83-84.
11. Шантыз А.Ю., Ромащенко С.В., Шантыз А.Х. Морфогенез щитовидной железы в пренатальном онтогенезе свиньи / А.Ю. Шантыз, С.В. Ромащенко, А.Х. Шантыз // Труды Кубанского государственного аграрного университета. - 2012. - № 36. С. 176-177.
12. Bl hser S. Immunocytochemical Demonstrationof Calcitonin-Containing C-Cells in the Thyroid Glands of Different Mammals. Cell Tiss. Res. 1978; 186, 551-558
13. Bussolati G., Pearse A.G.E. Immunofluorescent localization of calcitonin in the «C» cells of pig and dog thyroid. Journal of Endocrinology (Impact Factor: 3.59). 03/1967; 37(2):205-9.
14. Carvalho A.F., Pearse A.G.E. The cytology and cytochemistry of the «C» cells in the thyroid gland of the pig. Journal. Royal Microscopical Society (Great Britain) 03/1967; 86(3):203-9.
15. De Grandi P.B., Kraehenbuhl J.P., Campiche M.A. Ultrastructural localization of calcitonin in the parafollicular cells of pig thyroid gland with cytochrome c-labeled antibody fragments. J Cell Biol. 1971 Aug; 50(2):446-56.
16. Fette A.W., Capen C.C. Ultrastructural Evaluation of Thyroid Parafollicular Cells of Pigs with Naturally Occurring Atrophic Rhinitis. Path. vet. 1970; 7: 171-185
17. Fierabracci A. Identifying thyroid stem/progenitor cells: advances and limitations J. Endocrinol. 2012. 213: 1—13.
18. Fierabracci A., Puglisi M. A., Giuliani L., Mattarocci S., Gallinella-Muzi M. Identification of an adult stem/progenitor cell-like population in the human thyroid. J. Endocrinol. 2008. 198 (3): 471—487.
19. Hakanson R., Owman C., Sundler F Fluorescence histochemical and microspectrofluorometric evidence of tryptophyl peptides in thyroid c cells of cat and pig. The Histochemical Society, Inc. 1972. Vol. 20, No. 3, pp. 205-210
20. Mietkiewski K., Zabel M., Linke K. Comparative studies of the C cells in the thyroid glands of the domestic pig and cat. Folia Histochem Cytochem (Krakow). 1974; 12(3-4):247-54.
21. Miettinen M. Modern Soft Tissue Pathology: Tumors and Non-Neoplastic Conditions (Cambridge Medicine) Hardcover – June 14, 2010, 1116 pp.
22. Suzuki K., Mitsutake N., Saenko V., Suzuki M., Matsuse M., Ohtsuru A., Kumagai A., Uga T., Yano H., Nagayama Y., Yamashita S. 2011. Dedifferentiation of human primary thyrocytes into multilineage progenitor cells without gene introduction. www. plosone. org. 6: 193—154.
23. Thomas T., Nowka K., Lan L., Derwahl M. Expression of endoderm stem cell markers: evidence for the presence of adult stem cells in human thyroid glands. Thyroid. 2006. 16: 537—544.
24. Tsuchiya T., Shiomura Y., Suzuki K., Nagai H., Tamate H. Immunocytochemical study on the C cells in pig thyroid glands. Acta Anat (Basel). 1984; 120(3):138-41.

References:

1. Ablameiko S.V., Nedzved A.M.//Obrabotka opticheskikh izobrazheniy kletochnykh struktur v medicine. [Processing optical images of cellular structures in medicine] – Mn.: OIPI NAN Belarusi, 2005. – 156 s.
2. Avtandilov G.G.// Medicinskaya morfometriya. [Medical morphometry] – M.: Medicina, 1990. – 284 s.
3. Bilyavskaya S.B., Bozhok G.A., Legach E.I., Borovoy I.A., Gella I.M., Malyukin Yu.V., Bondarenko T.P.// Harakteristika pervichnoy kulturyi kletok iz neonatalnoy schitovidnoy zhelezyi sviney: follikulogenez, gormonalnaya i rostovaya aktivnost. [Characteristics of primary cell cultures of neonatal of thyroid pigs: folliculogenesis, hormone and growth activity]. Tsitologiya. 2013. - T. 55. № 7. S. 482-491.
4. Volkov V.P. Functional morphology of C cells of thyroid in the age aspect [Functional morphology of C cells of thyroid in the age aspect]// Innovations in science: Sat. Art. Materials XXXIV Intern. scientific and practical. Conf. Number 6 (31). Novosibirsk: Seebach, 2014. - C. 78-90.
5. Zhivotova T.Yu. Razvitie schitovidnoy i zobnoy zhelez u sviney razlichnykh porod i pomesey

- [Development of the thyroid and thymus glands of pigs of different breeds and hybrids]. *Innovatsionnye puti razvitiya APK: problemy i perspektivy materialy mezhdunarodnoy nauchno-prakticheskoy konferentsii: v 4 tomah. Persianovskiy, 2013.- S. 113-115.*
6. Korzhevskiy D.E.// Teoreticheskie osnovy i prakticheskoe primeneniye metodov immunogistohimii [The theoretical basis and practical application of immunohistochemistry]. - SpetsLit, 2010. - 124 s.
 7. Kuzmin I.V.// Onkologiya legkih. Monografiya [Oncology lungs. The monograph]. [Elektronnyy resurs] Rezhim dostupa: <http://www.remedium.ru/drugs/doctor/oncology/detail.php?ID=17634>
 8. Lezhnina M.N., Mullakaev A.O., Blinova A.D.// Ontogeneticheskie osobennosti strukturno-funktsionalnogo sostoyaniya schitovidnoy zhelezy u svinей v usloviyah primeneniya otechestvennykh biopreparatov [Developmental features of structural and functional state of thyroid in pigs in the conditions of use national biologics.]. *Uchenye zapiski Kazanskoy gosudarstvennoy akademii veterinarnoy meditsiny im. N.E. Bauman. 2012. T. 209. S. 198-202.*
 9. Lyichkova A.E.// Nervnaya regulyatsiya funktsii schitovidnoy zhelezy [Nervous regulation of thyroid function]. *Vestnik RAMN. Aktualnye voprosy patofiziologii, №6, 2013.- S. 49-55*
 10. Paltsev M.A., Kvetnoy I. M. *Rukovodstvo po neyroimmunoendokrinologii 2-e izd M.: OAO «Izdatelstvo «Meditsina», 2008.— 512 s.*
 11. Pilov A.H.// K voprosu o transformatsii schitovidnoy zhelezy svinей [On the question of the transformation of of thyroid of pigs]. *Materialy mezhvuzovskoy nauchno-prakticheskoy konferentsii, posvyaschennoy 75-letiyu pervogo rektora KBGSHA, doktora biologicheskikh nauk, professora, Zasluzhennogo deyatelya nauki RF KBR, Respubliki Adyigeya Fiapsheva Borisa Hamzetovicha Glavnyiy redaktor B. H. Zherukov. 2011.- S. 83-84.*
 12. Shantyiz A.Y., Romaschenko S.V., Shantyiz A.H. *Morfogenez schitovidnoy zhelezy v prenatalnom ontogeneze svini [Morphogenesis of thyroid during prenatal ontogenesis pigs]. Trudy Kubanskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta. 2012.- № 36. S. 176-177.*
 13. – 25. Vide supra.

Muzhikyan A.A.

IMMUNE HISTOCHEMICAL STUDY AND C-CELL MORPHOLOGY IN THYROID GLAND IN SWINE

Key Words: thyroid gland, C-cells, swine, immune histochemistry, calcitonin, neuron-specific enolase, synaptophysin.

Abstract: Immune histochemical study was performed on C-cells of thyroid gland (TG) in swine divided into different age groups; it allowed detection of calcitonin (CAL), neuron-specific enolase (NSE), and synaptophysin (SYN) expression. Basic morphometric properties of C-cell population such as average C-cell count in the field of vision, average coverage of CAL-positive matter in the field of vision, average coverage of a single C-cell with calcitonin expression, average diameter of C-cell karyon (KAS), and C-cell functional activity (ELISA) were determined. Morphometric study and statistical analysis of the properties provided some species-specific features never observed in other animals before. C-cell count in swine TG tissue in early ontogenesis did not change significantly. At day 4 – 5 CAL-positive coverage in the piglets' TG tissue increased and statistically significantly decreased by day 8 – 10 of age. It was demonstrated that decline in calcitonin expression was associated with increase count of cells with positive stain reaction to NSE. C-cell coverage varied insignificantly at all studied periods. KAS increased by day 4 – 5 and decreased by 1.5 – 2 year of age. It was also found out that along with C-cells featuring small euchromatin-rich nuclei there were abundant cells with pycnotic hyperchromic nuclei which had positive response to calcitonin, NSE, synaptophysin, and in some cases to vimentin staining. Hyperchromic nuclei were found in C-cells regardless of granule build-up or degranulation processes hence were not associated with functional activity in the cells thus implying presence of a special C-cell population or a specific line of C-cell population development in swine TG tissue.

Сведения об авторах:

Музыкян Арман Артушович, младший научный сотрудник ЗАО «Санкт-Петербургский институт фармации», д.б/н, корп. 245, г.п. Кузьмоловский, Ленинградская область, Россия, 188663; тел.: +7 (962) 686-21-60; e-mail: mancho1@yandex.ru

Author affiliation:

Arman Artushovich Muzhikyan, scientist, St-Petersburg Institute of Pharmacy, 245, Kuzmolovskiy, Leningrad Region, Russia, 188663; phone: +7 (962) 686-21-60; e-mail: mancho1@yandex.ru