

**УЛЬТРАМИКРОСКОПИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ СТРОЕНИЯ С-КЛЕТОК
ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ КРЫС ПОСЛЕ 60-ДНЕВНОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ БЕНЗОАТА НАТРИЯ****В.Н.Морозов, Е.Н.Морозова, А.В.Солин****ULTRAMICROSCOPIC FEATURES OF THE STRUCTURE OF THYROID GLAND C CELLS
IN RATS AFTER 60 DAYS OF SODIUM BENZOATE EXPOSURE****V.N.Morozov, E.N.Morozova, A.V.Solin***Белгородский государственный национальный исследовательский университет, morozov_v@bsu.edu.ru*

Для достижения цели исследования было отобрано 12 белых половозрелых крыс-самцов, распределенных на две группы: 1-ю группу составили животные, получавшие ежедневно в течение 60 дней внутрижелудочно бензоат натрия в дозе 1000 мг/кг массы тела, а 2-ю группу — контрольные животные. Забор образцов щитовидной железы для электронно-микроскопического исследования, проводку, изготовление срезов и их контрастирование выполняли по стандартному протоколу. У животных 1-й группы в цитоплазме С-клеток преобладали секреторные гранулы крупного размера, часть из них имели низкую электронную плотность, часть была с неоднородным содержимым, а другие остались электронно-плотными. Ядра парафолликулярных клеток имели узкий ободок гетерохроматина под кариолеммой. В большинстве митохондрий были видны кристы неправильной формы. Кроме того, присутствовало также локальное повреждение митохондрий. Обнаружены короткие и тонкие цистерны гранулярной эндоплазматической сети с небольшим количеством рибосом на их внешней поверхности. Вышеуказанные морфологические особенности парафолликулярных клеток щитовидной железы половозрелых крыс свидетельствуют об изменении механизмов синтеза кальцитонина в канальцах эндоплазматической сети, белковосинтетической функции клеток и ее энергообеспечения под воздействием бензоата натрия.

Ключевые слова: щитовидная железа, С-клетки, ультраструктура, бензоат натрия

Для цитирования: Морозов В.Н., Морозова Е.Н., Солин А.В. Ультрамикроскопические особенности строения С-клеток щитовидной железы крыс после 60-дневного воздействия бензоата натрия // Вестник НовГУ. Сер.: Медицинские науки. 2022. №2(127). С.43-46. DOI: [https://doi.org/10.34680/2076-8052.2022.2\(127\).43-46](https://doi.org/10.34680/2076-8052.2022.2(127).43-46)

To achieve the aim of the study, 12 white mature male rats were selected and divided into two groups: the group I consisted of animals treated daily for 60 days intragastrically with sodium benzoate at a dose of 1000 mg/kg of body weight, and the group II are control animals. Samples of thyroid gland were taken for electron microscopy, processed, sectioned, and stained according to a standard protocol. In animals of the group I, large-sized secretory granules prevailed in the cytoplasm of C cells, some of them had low electron density, some had heterogeneous content, while others remained electron-dense. The nuclei of parafollicular cells had a narrow rim of heterochromatin under the karyolemma. Most of the mitochondria showed irregularly shaped cristae. In addition, local mitochondrial damage was also present. Short and thin cisterns of the rough endoplasmic reticulum with a small number of ribosomes on their outer surface were found. The above morphological features of the thyroid gland C cells in mature rats indicate a change in the mechanisms of calcitonin synthesis in the cisterns of the endoplasmic reticulum, the protein-synthetic function of cells and its energy supply under the influence of sodium benzoate.

Keywords: thyroid gland, C cells, ultrastructure, sodium benzoate

For citation: Morozov V.N., Morozova E.N., Solin A.V. Ultramicroscopic features of the structure of thyroid gland C cells in rats after 60 days of sodium benzoate exposure // Vestnik NovSU. Issue: Medical Sciences. 2022. №2(127). P.43-46. DOI: [https://doi.org/10.34680/2076-8052.2022.2\(127\).43-46](https://doi.org/10.34680/2076-8052.2022.2(127).43-46)

Введение

В своей повседневной жизни люди подвергаются воздействию значительного количества химических веществ, большинство из которых встречаются в природе в окружающей среде, но другие возникают в результате деятельности человека, присутствуя в пищевых продуктах, воде и различных продуктах повседневного использования [1].

Бензоат натрия (пищевая добавка E211) является широко используемым консервантом в пищевой и фармацевтической промышленности благодаря своей антибактериальной и противогрибковой активности [2].

При этом имеющиеся данные литературы свидетельствуют как о положительных аспектах фармакодинамики бензоата натрия в терапии некоторых заболеваний, так и негативном в отношении здоровья человека.

Так, доказано, что использование бензоата натрия значительно уменьшает уровень гипераммониемии в крови у пациентов с декомпенсированным циррозом печени [3], улучшает положительную симптоматику при шизофрении [4], стимулирует выработку дофамина дофаминергическими нейронами при болезни Паркинсона [5], способствует улучшению когнитивных функций у пациентов с деменцией [6].

С другой стороны, имеющиеся исследования показывают, что бензоат натрия оказывает мутагенное и цитотоксическое действие на лимфоциты человека *in vitro* [7], снижает уровень ферментов антиоксидантной защиты — глутатионпероксидазы, каталазы, глутатионредуктазы и супероксиддисмутаза; увеличивает концентрацию аланин- и аспартатаминотрансферазы, щелочной фосфатазы, мочевины и креатинина; провоспалительных цитокинов — TNF- α , IFN- γ , IL-1 β и IL-6 у крыс в эксперименте по сравнению с контролем [2].

В связи с вышеизложенным, дальнейшее изучение влияния бензоата натрия на организм человека является актуальным и позволит дополнить имеющиеся данные литературы по этому вопросу.

Одной из желез, которая обеспечивает гуморальную регуляцию роста и развития организма, обмена веществ является щитовидная железа. Ее парафолликулярные клетки (С-клетки) имеют отличный от фолликулярных клеток источник развития — нервные гребни, синтезируют и секретируют в кровь кальцитонин, который регулируют кальциево-фосфорный обмен [8].

В имеющейся литературе отсутствуют данные о морфофункциональном состоянии парафолликулярных клеток щитовидной железы в условиях длительного воздействия бензоата натрия, поэтому целью исследования явилось изучение их электронно-микроскопических изменений у половозрелых крыс после 60-дневного введения бензоата натрия.

Методы исследования

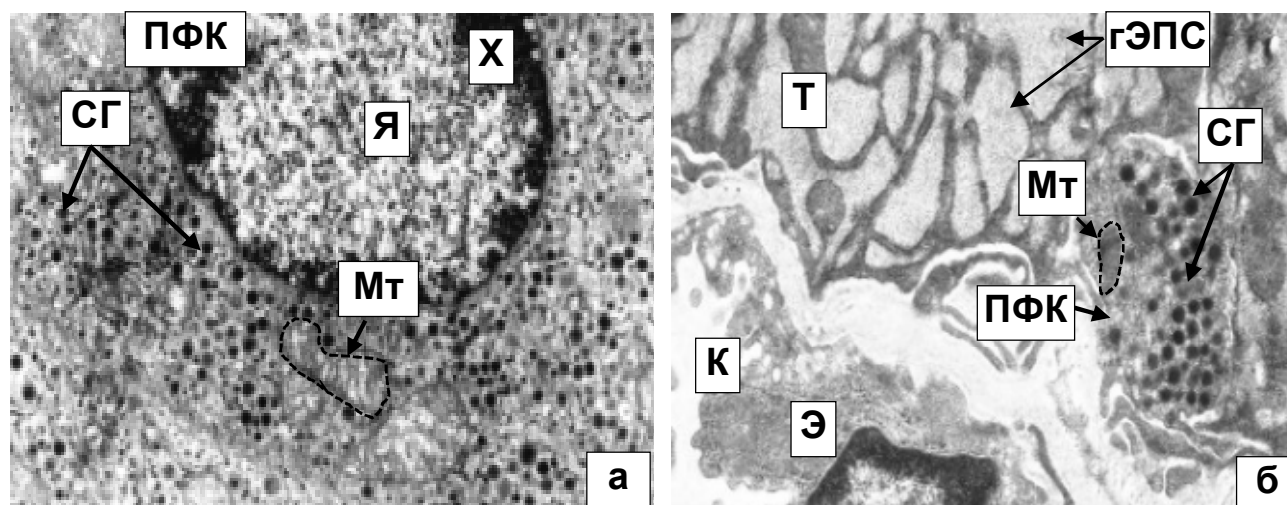
Для эксперимента было отобрано 12 белых половозрелых крыс-самцов с исходной массой тела 200–250 г. Первой группе животных (6 особей) ежедневно в течение 60-ти дней внутрижелудочно вводили 1 мл раствора бензоата натрия в дозе 1000 мг/кг массы тела (производитель Eastman Chemical B.V., Нидерланды, расфасовано на КП КОР «Фармацевтическая фабрика», Киев, по заказу АТ «Эксимед»). Второй группе (также 6 особей) в аналогичных первой группе усло-

виях вводили 1 мл 0,9% 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 [9]. Крысы выводились из эксперимента методом декапитации. После извлечения щитовидной железы ее измельчали на кусочки (1 мм³). Последние фиксировали в 2,5% растворе глутаральдегида, с последующей обработкой в 1% 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°C. 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 [10].

Результаты исследования

У животных контрольной группы парафолликулярные клетки располагаются в основании между тироцитами или между фолликулами в центральных областях долей щитовидной железы и частью своей мембраны прилежат к фенестрированным капиллярам. Данные клетки преимущественно круглой или яйцевидной формы, реже — треугольной или веретенообразной. В цитоплазме С-клеток визуализируется значительное количество однородных электронно-плотных секреторных гранул разного размера. Ядро у них располагается эксцентрично или в центре. Вокруг последнего распределена тонкая сеть гранулярной эндоплазматической сети (гЭПС). Аппарат Гольджи состоит из нескольких уплощенных мешочков, выявляются единичные лизосомы. Митохондрии различной формы равномерно распределяются в цитоплазме, иногда расположены в виде скоплений. Аналогичную морфологическую картину подтверждают данные, полученные J.Dadan et al. (2004), C.S.Xu et al. (2014) [11,12].



Участок щитовидной железы половозрелых крыс (а — контрольная группа, б — экспериментальная группа): Т — тироцит, Я — ядро, Х — гетерохроматин, гЭПС — гранулярная эндоплазматическая сеть, Мт — митохондрии, СГ — секреторные гранулы, К — фенестрированный капилляр, Э — эндотелиоцит, ПФК — парафолликулярная клетка. Увеличение $\times 8000$

У экспериментальных животных по сравнению с контролем в С-клетках щитовидной железы была изменена морфология гранул. В поле зрения преобладали секреторные гранулы крупного размера, часть из них имели низкую электронную плотность, часть была с неоднородным содержимым, а другие остались электронно-плотными. Ядра имели узкий ободок гетерохроматина под кариолеммой. В большинстве митохондрий видны кристы неправильной формы. Кроме того, присутствовало также локальное повреждение митохондрий. Обнаружены короткие и тонкие цистерны гЭПС с небольшим количеством рибосом на их внешней поверхности (см. рис.).

В литературных данных отсутствует информация о воздействии бензоата натрия непосредственно на метаболизм кальция. При этом M.Zabel et al. (1999) утверждают, что контроль образования мРНК для гена, кодирующего кальцитонин в С-клетках, может включать в себя не только гуморальные факторы, но и прямые контакты с тироцитами [13]. Поэтому можно предположить, что изменения в тироцитах, вызванные бензоатом натрия, напрямую повлияют на морфофункциональные особенности строения С-клеток. По данным J.D.Piper et al. (2017), систематический прием или высокая концентрация бензоата натрия у мышей уменьшают синтез лептина адипоцитами [14]. C.F.Ramos et al. (2014) в своих исследованиях показывает, что уменьшение лептина, воздействуя через гипоталамус, способствует снижению продукции тиреолиберина, а в последствии через тиреотропный гормон, воздействуя на фолликулярные клетки щитовидной железы снижает синтез тироксина [15]. Исследования C.Saatci et al. (2016) и J.D.Piper et al. (2017) показали, что высокие дозы бензоата натрия вызывают повреждение ДНК не только ядер эпителиальных клеток печени крыс, но и митохондрий [14,16]. По данным F.Shapiro et al. (2006), а также M.Abdul-Hamid et al. (2013) мутации в ДНК могут приводить к нарушениям синтеза белка и замедлению его транспорта из гЭПС [17,18]. Бензоат натрия, по данным M.Kundu et al. (2016), индуцирует экспрессию TGF- β (ингибитор роста эпителиальных клеток) тироцитами [19]. Учитывая данные исследования, можно предположить, что морфологические изменения парафолликулярных клеток могут быть опосредованы через воздействие на них фолликулярных клеток, которые чувствительны к воздействию бензоата натрия.

Выводы

1. Парафолликулярные клетки щитовидной железы контрольной группы крыс имеют типичное строение.

2. Выявленные морфологические особенности С-клеток щитовидной железы у половозрелых крыс экспериментальной группы свидетельствуют о изменении механизмов синтеза кальцитонина в канальцах эндоплазматической сети, белковосинтетической функции клеток и ее энергообеспечения под

воздействием бензоата натрия. Они, вероятно, обусловлены воздействием уже морфологически измененных фолликулярных клеток как паракринно, так и через межклеточные контакты.

1. Panico A., Serio F., Bagordo F., et al. Skin safety and health prevention: an overview of chemicals in cosmetic products. *J. Prev. Med. Hyg.*, 2019, vol. 60, no. 1, pp. E50–E57. doi: <https://doi.org/10.15167/2421-4248/jpmh2019.60.1.1080>
2. 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.*, 2022, vol. 45(3), pp. 1345–1354 doi: <https://doi.org/10.1080/01480545.2020.1825472>
3. Snehavardhan P., Lal B., Sood V., et al. Efficacy and safety of sodium benzoate in the management of hyperammonemia in decompensated chronic liver disease of the childhood—a double-blind randomized controlled trial. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 2020, vol. 70, no. 2, pp. 165–170. doi: <https://doi.org/10.1097/MPG.0000000000002521>
4. Seetharam J.C., Maiti R., Mishra A., Mishra B.R. Efficacy and safety of add-on sodium benzoate, a D-amino acid oxidase inhibitor, in treatment of schizophrania: A systematic review and meta-analysis. *Asian J. Psychiatr.*, 2021, vol. 68, art. no. 102947. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ajp.2021.102947>
5. Rangasamy S.B., Dasarathi S., Nutakki A., et al. Stimulation of dopamine production by sodium benzoate, a metabolite of cinnamon and a food additive. *J. Alzheimers Dis. Rep.*, 2021, vol. 5, no. 1, pp. 295–310. doi: <https://doi.org/10.3233/ADR-210001>
6. Chieh-Hsin L., Ping-Kun C., Shi-Heng W., Hsien-Yuan L. Effect of Sodium Benzoate on Cognitive Function Among Patients with Behavioral and Psychological Symptoms of Dementia: Secondary Analysis of a Randomized Clinical Trial. *JAMA Netw. Open.*, 2021, vol. 4, no. 4, p. e216156. doi: [10.1001/jamanetworkopen.2021.6156](https://doi.org/10.1001/jamanetworkopen.2021.6156)
7. Zengin N., Yüzbaşıoğlu D., Unal F., et al. The evaluation of the genotoxicity of two food preservatives: sodium benzoate and potassium benzoate. *Food Chem. Toxicol.*, 2011, vol. 49, no. 4, pp. 763–769. doi: [10.1016/j.fct.2010.11.040](https://doi.org/10.1016/j.fct.2010.11.040)
8. Das S.S., Mishra S., Kaul J.M. Development of Para-follicular Cells and their Relationship with Developing Thyroid Follicles in Human Foetuses. *J. Clin. Diagn. Res.*, 2017, vol. 11, no. 7, pp. AC01–AC04. doi: [10.7860/JCDR/2017/26211.10225](https://doi.org/10.7860/JCDR/2017/26211.10225)
9. Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of the European Union on the protection of animals used for scientific purposes, complying with the requirements of the European Economic Area. St. Petersburg, 2012, 276:0033: 0079: EN: PDF
10. Reynolds E.S. The use of lead citrate at high pH as an electron-opaque stain in electron microscopy. *Journal of cell biology*, 1963, no. 17, pp. 208–212.
11. Dadan J., Zbucki R., Andrzejewska A., Winnicka M.M., Puchalski Z. Activity of thyroid para-follicular (C) cells in rats with hyperthyroidism—preliminary ultrastructural investigations. *Rocz. Akad. Med. Białymst.*, 2004, vol. 49, suppl 1., pp. 132–134.
12. Xu C.S., Pang S., Shtengel G., Müller A., Ritter A.T., Hoffman H.K., Takemura S. An open-access volume electron microscopy atlas of whole cells and tissues. *Nature*, 2021, vol. 599, pp. 147–151. doi: <https://doi.org/10.1038/s41586-021-03992-4>
13. Zabel M., Dietel M., Gebarowska E., Michael R. Effect of follicular cells on calcitonin gene expression in thyroid para-follicular cells in cell culture. *Histochem. J.*, 1999, vol. 31, no. 3, pp. 175–180. doi: [10.1023/a:1003597416140](https://doi.org/10.1023/a:1003597416140)
14. 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, no. 5, pp. 868–880. doi: [10.1111/1541-4337.12284](https://doi.org/10.1111/1541-4337.12284)

15. Ramos C.F., Zamoner A. Thyroid hormone and leptin in the testis. *Frontiers in Endocrinology*, 2014, vol. 5. doi: 10.3389/fendo.2014.00198.
16. 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, vol. 30, no. 6, pp. 1179–1183. doi: <https://doi.org/10.1080/13102818.2016.1224979>
17. Shapiro F., Mulhern H., Weis M.A., Eyre D. Rough endoplasmic reticulum abnormalities in a patient with spondyloepimetaphyseal dysplasia with scoliosis, joint laxity, and finger deformities. *Ultrastruct Pathol.*, 2006, vol. 30, no. 5, pp. 393–400. doi: 10.1080/01913120600967004
18. Abdul-Hamid M., Salah M. Lycopene reduces deltamethrin effects induced thyroid toxicity and DNA damage in albino rats. *The Journal of Basic and Applied Zoology*, 2013, vol. 66, pp. 155–163. doi:10.1016/j.jobaz.2013.08.001
19. Kundu M., Mondal S., Roy A., Martinson J.L., Pahan K. Sodium benzoate, a food additive and a metabolite of cinnamon, enriches regulatory T cells via STAT6-mediated upregulation of TGF β . *J. Immunol.*, 2016, vol. 197, no. 8, pp. 3099–3110. doi: 10.4049/jimmunol.1501628