

Anti Tiroid İlaçların Sıçan Parafoliküler (C) Hücrelerine Etkileri

THE EFFECT OF ANTI THYROID DRUGS IN THE RAT PARAFOLLICULAR (C) CELLS

Aysel KÜKNER*, Jale ÖNER**, Neriman ÇOLAKOĞLU**, Hakan ÖNER**, Enver OZAN***

* Doç.Dr., Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji AD,

** Araş.Gör.Dr., Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji AD,

*** Prof.Dr., Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji AD, ELAZIĞ

Özet

Amaç: Çalışmanın amacı, tiroid bezindeki C ve epitel hücrelerine, anti tiroid ilaç olan propil tiourasilin etkilerinin incelenmesidir.

Materyel ve Metod: Bu deneysel çalışmada, erişkin erkek sıçanlara 10mg/kg 6-n-propyl-2-thiouracil (Sigma) periton içine verilerek hipotiroidizm oluşturuldu. Sıçanlar 3 gruba ayrıldı (4 sıçan/grup): 1) Anti tiroid ilaç verilmeyen kontrol grubu, 2) On beş gün boyunca her gün 10mg/kg propil tiourasil verilen grup, 3) On beş gün propil tiourasil verilen ve ilaç kesildikten sonra 15 gün normal şartlarda beslenen grup. Tüm hayvanlar eter anestezisi altında öldürüldü ve tiroid bezleri alındı. Küçük parçalara ayrılan örnekler %2.5 glutaraldehit (0.1 M fosfat tamponlu) ile tespit edildi. %1'lik osmium tetraoksit ile ikinci tespit yapıldı, etil alkol ile dehidrate edildi ve Araldit'e gömüldü.

Bulgular: İkinci grubun tiroid bezinde, folliküler lümenin daraldığı ve düzensizleştiği, kolloidin azaldığı, prizmatik epitel ve C hücrelerinde çok sayıda mitotik şekillerin olduğu gözlemlendi. Epitelial hücrelerdeki mitotik aktivasyon C hücrelerinden daha fazlaydı. Propil tiourasil verilmesi kesildikten 15 gün sonra, folliküler lümen genişlemiş daha düzenli ve kolloid ile doluydu. Epitel ve C hücrelerinde mitotik şekiller gözlenmedi. C hücreleri hipertrofik ve hiperplazik olarak gözlemlendi. İnce yapıda, C hücre sitoplazmaları genişlemiş granüler endoplazmik retikulum sisternaları ve çeşitli çaplarda salgı granüllerine sahipti.

Sonuç: Sonuç olarak, propil tiourasil'e bağlı hipotiroidizm sonrası tiroid folliküler hücreler normal durumuna geri dönmekte ancak C hücreleri gerilememektedir.

Anahtar Kelimeler: Propil tiourasil, C hücreleri, Mikroskop

T Klin Tıp Bilimleri 2002, 22:497-501

Summary

Purpose: The aim of the study was to investigate the effect of anti thyroid drug (propyl thiouracil) on the thyroid follicular epithelial and C cells.

Material and Method: In this experimentally study, hypothyroidism was induced by 10mg/kg 6-n-propyl-2-thiouracil (Sigma) by injecting to adult male rats intraperitoneally. The rats were separated into three groups (4 rats/group). One group of animals that did not receive the propyl thiouracil was considered as the control group. Second group of animals were treated with propyl thiouracil for 15 days. Third group of animals, after 15 days of treatment were allowed free access to tap water without propyl thiouracil with survival times of 15 days. All animals were killed under ether anaesthesia by decapitation and thyroid glands were removed. The material cut into small pieces and fixed in 2.5% glutaraldehyde in 0.1 M phosphate buffer. Samples were postfixed with 1% osmium tetroxide and embedded in Araldit.

Results: We observed that follicular lumens were narrow, irregular and depleted of colloid and columnar epithelial and C cells displaying many more mitotic figures in the thyroid glands of 2 groups. The mitotic activation in the epithelial cells was higher than C cells. At 15 days after the withdrawal of propyl thiouracil treatment, the follicular lumens became wider, more regular and filled with colloid. Mitotic figures were not visible in the follicular epithelium and C cells. C cells were hypertrophic and hyperplastic. Ultrastructurally the C cell cytoplasm had a dilated rough endoplasmic reticulum cisternae and variable size secretory granules.

Conclusion: Our results indicate that after cessation of propyl thiouracil in induced hypothyroidism thyroid follicular cell return to normal but C cells do not.

Key Words: Propyl thiouracil, C cell, Microscopy

T Klin J Med Sci 2002, 22:497-501

Parafoliküler hücreler (C hücreleri), tiroid bezinde, sıklıkla folliküller arasında yer alan, lümen ile ilişkisi olmayan, epitel hücrelerinden daha açık boyanan ve kalsitonin salgılayan hücrelerdir. Kalsitonin, osteoklastlar tarafından kemiklerden kalsiyum çıkışını inhibe etmektedir (1). Embriyolojik olarak ultimobronşial cisimden köken aldığı belirlenmiş bu hücrelerin sayısı doğumdan sonra

artış göstermektedir (2). C hücrelerden ayrıca somatostatin, katalcalcin – I ve II, helodermin, gastrin salgılatıcı peptid, nöromedin gibi hormonlar da salgılanmaktadır (3). İmmünohistokimyasal olarak tüm C hücrelerinde tanımlanan somatostatinin insan ve sıçanlardaki C hücrelerinden salgılanması az miktardadır (4). C hücrelerinden salgılanan kalsitonin ve somatostatin follikül

epitel hücreleri üzerine parakrin etki yapmaktadır (5). Tiroid epitel ve C hücrelerinde büyüme hormonu (GH) reseptörleri immünohistokimyasal olarak tanımlanmıştır (6,7). Ayrıca doku farklanmasında olduğu kadar, kalsiyum dengesinde de rol oynayan önemli genlerden tiroid transkripsiyon faktör-1 C hücrelerinde tanımlanmıştır (8).

Tiroid hormonları, iyodinizasyon ve tiroidi kontrol eden faktörlerin C hücrelerine etkileri tartışılmaktadır. Tiroid parankim dokusunun büyümesine neden olan uyarıcı faktörler C hücrelerini etkilememektedir (9). Hiperkalsemi, folliküler tümörler, Hashimoto tiroidit ve medullar karsinomada C hücreleri sayıca artış göstermektedir (10). Bazı araştırmacılar ise Hashimoto tiroidinin C hücre sayısında anlamlı azalmaya yol açtığı, inflamasyonun hem folliküler hem de C hücrelerinde yıkıma neden olduğu, bunun yerini bağ dokusunun aldığını gözlemişlerdir (11). Radyasyon, C hücrelerinde hiperplaziye neden olmakta ve medullar karsinom ortaya çıkmaktadır (12). İyonize radyasyon ile birlikte perklorat verilen farelerde folliküler hücre karsinom oluşma yüzdesi oldukça yüksek gözlenirken, medullar karsinom gelişmesi gözlenmemiştir (13). D vitamini verilen sıçanların C hücrelerinde aktivitenin oldukça arttığı (14), östrojen verildiğinde ise C hücrelerinin sayısının, hücre ve çekirdek hacminin azaldığı gözlenmiştir (15). Son yıllarda yapılan çalışmaların bir kısmında ise intoksikasyon dozunda D3 vitamini verildiğinde ortaya çıkan hiperkalsemide C hücrelerinde hipertrofik ve hiperplastik değişikliklerin olmadığı bildirilmektedir (16). Çeşitli ilaçlar, kimyasallar folliküler ve parafoliküler hücreleri etkilemekte, TSH'nin uzun süre fazla salgılanmasına neden olmakta ve bu da tümör gelişimine yol açmaktadır (17).

Bu çalışmada, anti tiroid etkisi olan propil tiourasil ile deneysel olarak hipotiroidi oluşturulan ve ilaç kesildikten sonra 15 gün beklenen sıçanların follikül epitel ve C hücrelerindeki değişikliklerin elektron mikroskopik olarak incelenmesi amaçlanmıştır.

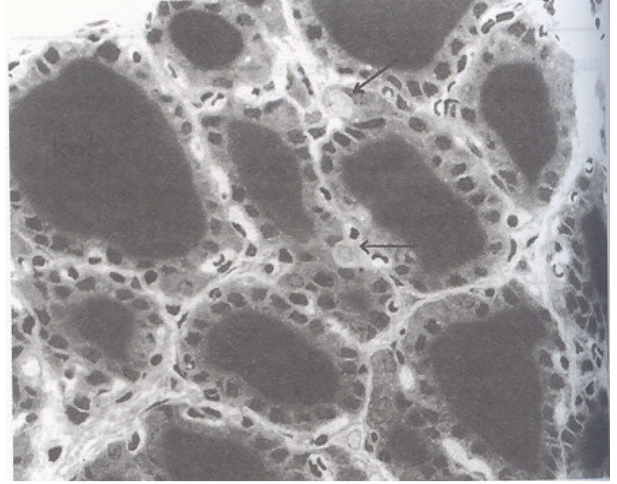
Gereç ve Yöntem

Çalışmada Wistar cinsi ergin, ağırlıkları ortalama 250 g olan erkek sıçanlar kullanıldı. Üç gruba ayrılan sıçanların bir bölümüne (n=4), 10mg/kg gün propil tiourasil (6-n-propyl-2-thiouracil, Sigma) periton içine 15 gün verilerek hipotiroidizm oluşturuldu. Diğer gruba (n=4) 15 gün propil tiourasil verildi ve ilaç kesilerek 15 gün normal şartlarda bekletildi. Kontrol grubuna (n=4) herhangi bir işlem uygulanmadı. Deney süreleri sonunda eter anestezisi altında sıçanların tiroid dokuları alındı ve 0.1 M fosfat tamponlu % 2.5 glutaraldehit ile tespit edildi. Dokular ikinci kez %1'lik osmik asit ile 1 saat tespit edildikten sonra dereceli etil alkol serilerinden geçirildi ve Araldit Cy 212 karışımına gömülerek bloklandı. Yarı ince kesitler ve

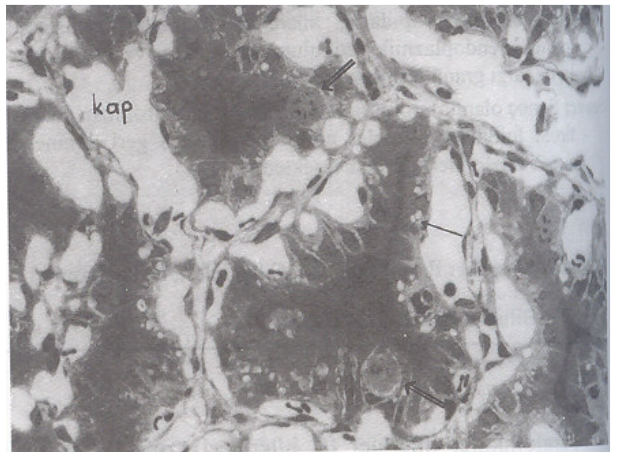
ince kesitler hazırlanarak BH2 Olympus fotomikroskop ve Zeiss 900 EM ile incelendi.

Bulgular

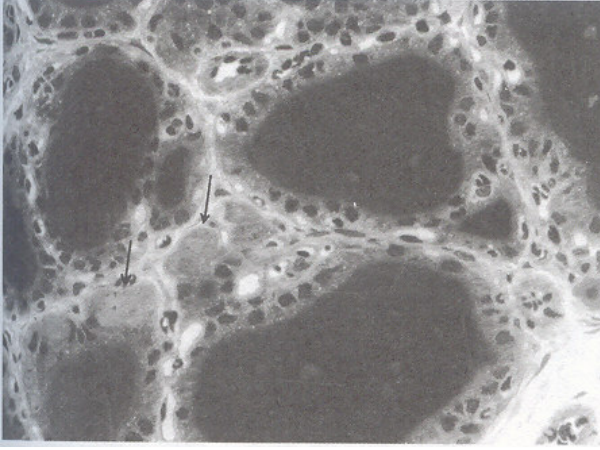
Kontrol tiroid bezleri incelendiğinde, folliküllerin kolloid maddesi ile dolu, epitelin düzenli olduğu görüldü. Folliküller arasında epitel hücrelerine göre daha açık boyanan C hücreleri izlendi (Şekil 1). Hipotiroidili grupta bez yapısının bozulduğu, kolloid maddesinin oldukça azaldığı, epitel hücre boylarının uzadığı ve vakuolize yapıların ortaya çıktığı gözlemlendi. Folliküller arasındaki kapillerlerin oldukça genişlediği dikkati çekti. Hem epitel hücrelerinde hem de C hücrelerinde mitotik figürler artmış



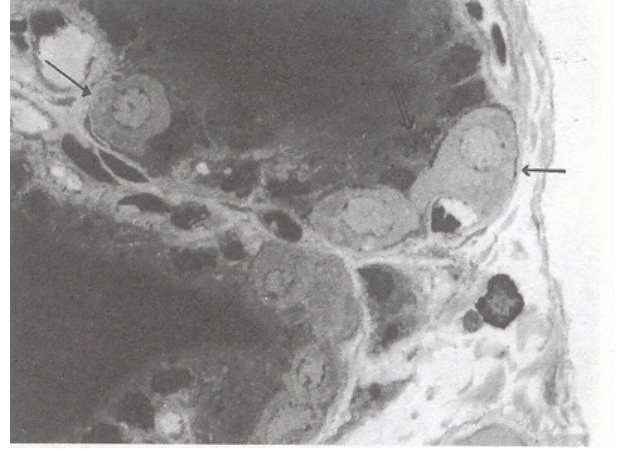
Şekil 1. Kontrol tiroid dokusunun yarı ince kesit görünümü. Kolloid (kol) ile dolu olan follikül yapılarında epitel hücrelerinin tek katlı kübik olarak düzenlendiği görülmekte. Folliküller arasında daha açık boyanmış parafoliküler C hücreleri izlenmekte (→). Toluidin mavisi X 40.



Şekil 2. Hipotiroidili tiroid dokusu. Folliküllerin lümenleri düzensizleşmiş, kolloid maddesi azalmış, epitel hücrelerinin boyu uzamış ve vakuolize yapılar (→) oluşmuş, folliküller arasındaki kapillerler (kap) oldukça genişlemiş olarak görülmekte. Epitel hücrelerinde ve C hücrelerinde artmış mitotik aktivite dikkati çekmekte (⇨). Toluidin mavisi X 40.



Şekil 3. Hipotiroidi oluşturulduktan sonra 15 gün bekletilen grubun tiroid dokusu kontrol grubuna benzerlik göstermekte. Folliküllerin kolloid ile dolduğu, epitel hücrelerinin düzgün olduğu, kapiller çaplarının normale döndüğü gözlenmektedir. Follikül arasında yer alan C hücrelerinin (→) irileştiği ve sayıca artmış olduğu dikkati çekmektedir. Toluidin mavisi X 40.

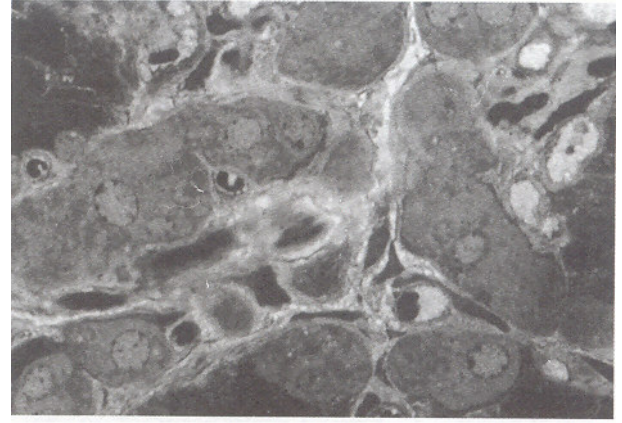


Şekil 4. Onbeş gün bekletilen gruptaki C hücrelerindeki (→) hiperplazi ve hipertrofi daha büyük büyütme ile görülmekte. Follikül epitel hücrelerinde salgı granülleri belirgin olarak seçilmekte (⇒). Toluidin mavisi X 100.

olarak izlendi (Şekil 2). Hipotiroidizm oluşturulduktan sonra ilaç kesilerek 15 gün bekletilen grupta, tiroid folliküllerinin yapısı kontrol grubuna benzemektedir. Kolloid maddesi birikmiş, epitel hücreleri kübik, düzgün olarak sıralanmıştı, kapillerler normal görünmekteydi (Şekil 3). Epitel hücrelerinde granüllerin belirginleştiği dikkati çekti. Folliküller arasında yer alan C hücreleri belirgin olarak gözlemlendi (Şekil 4). Çapları büyümüş olan C hücrelerinin kontrole göre sayıca artmış olduğu, bazı alanlarda topluluklar oluşturduğu görüldü (Şekil 5). Elektron mikroskopik incelemelerde C hücrelerinin yapısı deney gruplarında benzerlik göstermekteydi. Hipotiroidili gruptaki C hücrelerinde salgı granülleri belirgin olarak izlenmedi. Normal yapıda granüllü endoplazmik retikulum yapıları izlenirken, genişlemiş granüllü endoplazmik retikulum yapıları ise hücreye vakuolize bir görünüm kazandırmıştı. Mitokondriyonlar iri ve krista yapıları belirgindi (Şekil 6,7). İlaç kesildikten sonra 15 gün beklenen gruptaki C hücrelerinin sitoplazmasında çok belirgin olmayan elektron yoğunluğu az, yeni şekillenmekte olan salgı granülleri izlendi (Şekil 8).

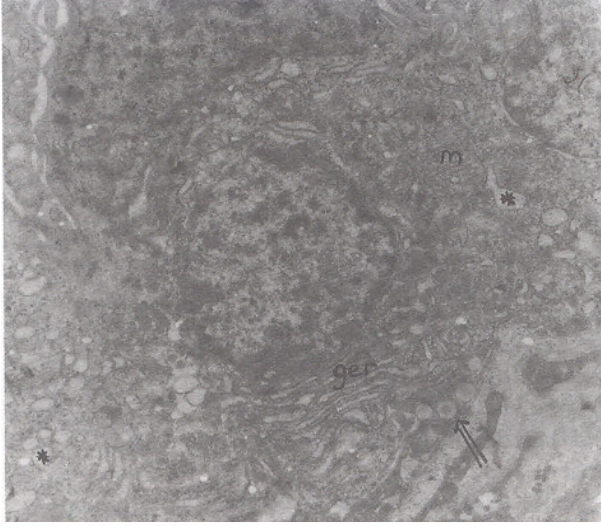
Tartışma ve Sonuç

Radyasyon, yüksek doz D vitamini veya hiperkalsemi (12, 16, 18, 19), kısa süreli verilen alkol (20) C hücrelerini ve epitel hücrelerini etkilemekte ve bu hücrelerde hiperplazi ve hipertrofiye neden olmaktadır. Deneysel overektomi sonrasında C hücrelerinin ve salgı granüllerinin azaldığı (21) bildirilirken, bir başka çalışmada dışarıdan östrojen verilen sıçanların C hücre sayısının, hücre ve çekirdek hacminin anlamlı olarak azaldığı gözlenmiştir (15). Uzun süre anti tiroid ilaç verilen köpeklerin tiroid bezlerinin normale göre 30 kat fazla büyüdüğü, folliküler

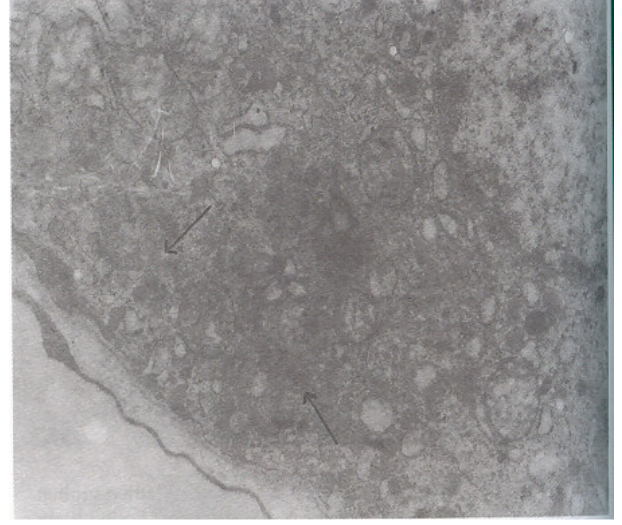


Şekil 5. Aynı grupta, C hücrelerinin topluluklar yapmış olduğu görülmekte. Toluidin mavisi X 100.

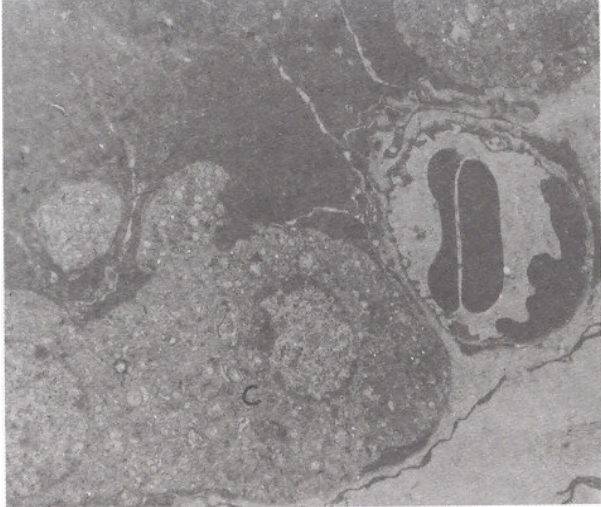
ve C hücrelerinde hiperplazi ve hipertrofi geliştiği gözlenmiştir. Parafolliküler hücrelerde kontrole göre kalsitonin immün boyanmasının azaldığı, çeşitli çaplarda veziküler kalıntıların olduğu ve çekirdek zarının genişlediği dikkati çekmiştir (22). Anti tiroid ilaçlardan Carbimazol'un tiroid hormonlarına etki ettiği, folliküler hücrelerde sayıca artışa neden olduğu gözlenmiştir (23). Thiamazol ise doza bağlı olarak C hücrelerinde sayıca artışa neden olmaktadır (24, 25). Deneysel hipotiroidizm oluşturulan gebe sıçanlardan doğan yavruların C hücrelerinde de hiperplazi ve hipertrofi izlenmiştir (26). Propil tiourasil ile oluşturulan deneysel hipotiroidide follikül epitel hücrelerindeki mitotik aktivitenin ve mast



Şekil 6. Hipotiroidi oluşturulmuş grubun C hücrelerinin elektron mikroskopik düzeyde görünümü. Kristalleri belirgin, iri mitokondriyonlar (m), düzgün yapılı granüler endoplazmik retikulum (ger) yapıları yanında genişlemiş granüler endoplazmik retikulum yapıları (*) , lipid damlaları (⇒) izlenmekte. Salgı granülleri çok belirgin olarak gözlenememekte. Kurşun sitrat- uranil asetat, orijinal büyütme X 7000.



Şekil 8. Daha büyük büyütmelerde C hücre sitoplazmasında farklı çap ve yoğunluktaki salgı granülleri (→) görülmekte. Kurşun sitrat- uranil asetat, orijinal büyütme X 12000.



Şekil 7. Hipotiroidi oluşturulduktan sonra 15 gün bekletilen grubun C hücreleri (C) hipotiroidili gruba benzemektedir. Kurşun sitrat- uranil asetat, orijinal büyütme X 3000.

hücrelerinin anlamlı olarak artışı daha önce yapılan çalışmada izlenmiştir (27). Bu çalışmada, folliküler epitel ve C hücrelerinde mitotik aktivite tespit edildi, ancak folliküler epitel hücrelerindeki mitotik aktivite C hücrelerindeki göre çok daha fazla izlendi. Hipotiroidi oluşturulmuş ve 15 gün bekletilmiş deney grubunda, folliküllerin kontrol grubuna benzediği, kolloid maddesinin

toparlandığı, epitel hücrelerinin düzenli olduğu gözlenirken, C hücrelerinin sayıca artmış olduğu dikkati çekti. C hücreleri irileşmiş açık boyanmış olarak bazı alanlarda topluluklar oluşturmuştu. İnce yapı düzeyinde C hücrelerinin sitoplazmalarında yoğun salgı granülleri yerine olgunlaşmakta olan çeşitli yoğunlukta salgı granülleri izlendi. Mitokondriyonlar kristalleri belirgin, granüllü endoplazmik retikulum yapılarının genişlemiş olduğu ve hücreye vakuolize bir görünüm kazandırdığı saptandı. Organel genişlemelerinin hücresel aktivitenin artışına bağlı olabileceği düşünüldü.

Sonuç olarak, propil tiourasile bağlı olarak ortaya çıkan hipotiroidizmde ilaç kesildikten sonra tiroid bezinin normal yapısına geri döndüğü, kontrol grubuna benzediği görülmüştür. Bu gerilemenin epitel hücrelerindeki mitotik aktivitenin azalmasıyla ilişkili olduğu tespit edilmiştir. Ancak, C hücrelerinde ortaya çıkan hiperplazi ve hipertrofinin 15 günlük bekleme süresinde gerilemediği gözlenmiştir.

KAYNAKLAR

1. Stevens A, Lowe J. Human Histology, Second Ed. Mosby London, 261.
2. Conde E, Martin-Lacave I, Utrilla JC, Gonzales- Campora R, Galera-Da H. Postnatal variations in the number and size of C-cells in the rat thyroid gland. Cell Tissue Res 1995; 280: 659-63.
3. Sawiccki B. Evaluation of the role of mammalian thyroid parafollicular cell. Acta Histochem 1995; 97: 389-99.
4. Thomas GA, Neonakis E, Davies HG, Wheeler MH, Williams ED. Synthesis and storage in rat thyroid C-cells. J Histochem Cytochem 1994; 42: 1055-60.

5. Fierabracci A, Castagna M, Baschieri L. Calcitonin and somatostatin containing C cells in rat and human thyroid. Immunohistochemical study by a double-staining method. *Pathologica* 1993; 85: 467-74.
6. Hull KL, Janssens WC, Baumbach WR, Harvey S. Thyroid glands: novel sites of growth hormone action *J Endocrinol* 1995; 146: 449-58.
7. Zattel MC, Tagliati F, Taylor JE, Rossi R, Culler Md, degli Uberti EC. Somatostatin receptor subtypes 2 and 5 differentially affect proliferation in vitro of the human medullary thyroid carcinoma line tt. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86: 2161-69.
8. Suzuki K, Kobayashi Y, Katoh R, Kohn LD, Kawaoi A. Identification of thyroid transcription factor-1 in C cells and parathyroid cells. *Endocrinology* 1998; 139: 3014-17.
9. Rink T, Fitz H, Schroth HJ, Braun S. Development of the parafollicular cells in recurrent goiter. *Eur J Endocrinol* 2001; 144: 485-9.
10. Lukacs G, Sapy Z, Gyory F, Toth V, Balazs G. Distribution of calcitonin containing parafollicular cells of the thyroid in patients with chronic lymphocytic thyroiditis: a clinical pathological and immunohistochemical study. *Acta Chir Hung* 1997; 36: 204-6.
11. Lima MA, Santos BM, Borges MF. Quantitative analysis of C cells in Hashimoto's thyroiditis. *Thyroid* 1998; 8: 505-9.
12. Thurston V, Williams ED. The effect of radiation on thyroid C cells. *Acta Endocrinol* 1982; 99: 72-8.
13. Zdenka P, Kalisnik M. The effect of sodium perchlorate and ionizing irradiation on the thyroid parenchymal and pituitary thyrotropic cells. *Oncology* 1991; 48: 317-20.
14. Von JH, Taniguchi K, Sato R, Naito Y. Effect of vitamin D₃ injection on activity of thyroid parafollicular cells in pregnant rats. *J Vet Med Sci* 1996; 58: 75-6.
15. Sekulic M, Louren M, Milosević V, Micic M, Balint-Peric L. Thyroid C cells of middle-aged rats treated with estradiol or calcium. *Histochem Cell Biol* 1998; 109: 257-62.
16. Martin-Lacave I, Ramos F, Utrilla JC, Conde E, Hevia A, Ferrandez R et al. Chronic hypervitaminosis D₃ determines a decrease in C cell numbers and calcitonin levels in rats. *J Endocrinol Invest* 1998; 21: 102-8.
17. Capen CC, Martin SL. The effects of xenobiotics on the structure and function of thyroid follicular and C- cells. *Toxicol Pathol* 1989; 17: 266-93.
18. Kalisnik M, Vraspir-Porenta O, Kham-Lindtner T, Logonder-Mlisnek M, Pajer Z et al. The interdependence of the follicular, parafollicular and mast cells in the mammalian thyroid gland; A review and a synthesis. *Am J Anat* 1988; 183: 148-57.
19. Pavlov AV. The mitotic activity of the follicular and parafollicular cells in the thyroid of rats with hypercalcemia. *Morfologija* 1992; 102: 98-105.
20. Chen H, Hayakawa D, Emura S, Tamada A, Ozawa Y, Taguchi H, Yano R, Shoumura S. Effects of ethanol on the ultrastructure of the hamster thyroid C-cell. *Histol Histopathol* 2000; 15: 469-74.
21. Sahai K, Yamada S, Yamada K. Effects of ovariectomy on parafollicular cells in the rat. *Okajimas Folia Anat Jpn* 2000; 76: 311-9.
22. Kameda Y. Degranulation and appearance of vesicular inclusions in canine C cells after administration of antithyroid drug *Cell Tissue Res* 1982; 225: 315-8.
23. Redmond O, Tuffery AR. Thyroid proliferation, body weight, thyrotropin and thyroid hormones in chronic antithyroid (carbimazole) treatment in rats. *J Anat* 1981; 133: 37-47.
24. Stoll R, Faucounau N, Maraud R. Development of follicular and parafollicular adenomas in the thyroid of rats treated with thiamazole. *Ann Endocrinol* 1978; 39: 179-89.
25. Stoll R, Faucounau N, Maraud R. Conditions for the appearance of parafollicular tumors in the thyroid gland of rats treated with thiamazole. *CR Seances Soc Biol Fil* 1980; 174: 268-73.
26. Usenko VS, Lepekhin EA, Lyzogubov VV, Kornilovska IN, Apostolov EO, Tytarenko RG, Witt M. The influence of maternal hypothyroidism and radioactive iodine on rat embryonal development: thyroid C-cells. *Anat Rec* 1999; 256: 7-13.
27. Kükner A, Öner J, Öner H, Çolakoğlu N, Özoğul C, Ozan E. Deneysel hipotiroidi oluşturulmuş siçan tiroid bezindeki yapısal değişikliklerin ışık ve elektron mikroskopik incelenmesi. *Fırat Tıp Dergisi* 2001; 2: 202-8.

Geliş Tarihi: 05.12.2001

Yazışma Adresi: Dr.Aysel KÜKNER
Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi
Histoloji ve Embriyoloji AD
akukner@firat.edu.tr