

The Parafollicular Cells of the Thyroid Gland as a Possible Site of Production of Thyrocalcitonin. An Electron-Microscopic Examination of the Thyroid Gland of the Rat after Stimulation by Calcium Acetate and Vitamin D₃

NONINDEZ¹ was the first to differentiate 2 different cell types in the thyroid gland of mammals, the follicular and the parafollicular cells. The parenchymatous cells of BABER, (the protoplasma-rich cells of HÜRTLE, the Macrothyrocytes of ZECKEL² and the light cells of LEGLOND³ are identical with parafollicular cells. It was not possible to establish an identity with the so-called mitochondria-rich cells⁴. The existence of the parafollicular cells can also be demonstrated by electron-microscopy^{3,5,6}.

It has been possible recently to verify the presence in the thyroid of experimental animals of calcitonin, a hormone which reduces the plasma calcium⁷. Electron-microscopic examination shows a strong relationship between the C-cells of the thyroid gland and calcitonin⁵. On the other hand, some authors claim that the mitochondria-rich cells produce thyrocalcitonin⁴. Experimentally, a reduction in the number of the so-called secretory granules in the parafollicular cells can be observed shortly after treatment with CaCl₂⁸, an indirect proof of the association of thyrocalcitonin production with these cells.

In order to elucidate the relationship between parafollicular cells and thyrocalcitonin, we compared by electron-microscopy the thyroid gland of normal rats with those of rats treated with 0.5 M calcium acetate solution containing vitamin D₃ (100 ml of the calcium acetate solution contained 4000 IU vitamin D₃). The rats were killed by nembutal narcosis at different time intervals after the beginning of the experiment and the thyroid gland osmium fixed and embedded in the usual manner in Epon 812. Ultrathin sections were cut with the LKB-Ultratome, and examined under the Zeiss EM 9 electron-microscope.

The morphological results are as follows (Figures 1-3): The follicular cells are characterized by wide cisternae in their endoplasmic reticulum. The parafollicular cells, however, are distinguished by the paleness of their cytoplasm and the variation in electron density of their granules; they are also larger than the follicular cells, are elongated, though rounded near the capillaries, and do not extend to the follicular lumen. Within the basal

¹ J. F. NONINDEZ, *Anat. Rec.* 56, 131 (1933).

² G. ZECKEL, *Anat. Rec.* 56, 119 (1933).

³ C. P. LEBLOND, *Endocrinology* 273, 669 (1963).

⁴ G. V. FOSTER, I. MACINTYRE and A. G. E. PEARSE, *Nature* 203, 1029 (1964).

⁵ A. G. E. PEARSE, *Proc. R. Soc.* 164, 478 (1966).

⁶ L. LUCIANO and E. REALE, *Z. Zellforsch. mikrosk. Anat.* 64, 751 (1964).

⁷ P. F. HIRSCH, E. F. VOELKEL and P. L. MUNSON, *Science* 146, 412 (1964).

⁸ T. MATSUZAWA and K. KUROSUMI, *Nature* 213, 927 (1967).

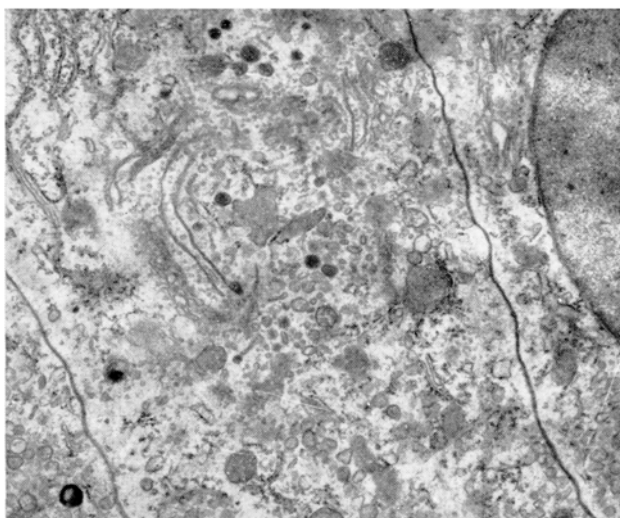


Fig. 2. Part of a parafollicular cell after stimulation for 14 days by calcium acetate and vitamin D₃ showing numerous secretory granules, A Golgi complex, multivesicular bodies and flattened sacs of the rough endoplasmic reticulum. $\times 5500$.

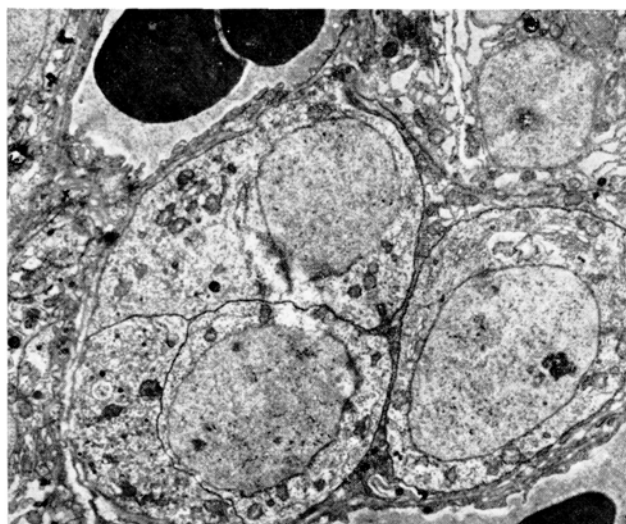


Fig. 1. Group of parafollicular cells of the rat after stimulation by calcium acetate and vitamin D₃ (for 14 days). $\times 1800$.

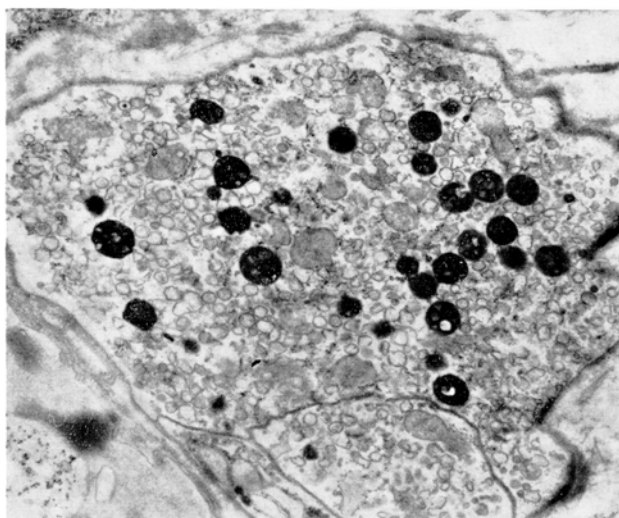


Fig. 3. Parafollicular cell containing many residual bodies. (After stimulation by calcium acetate and vitamin D₃ for 14 days.) $\times 5500$.

lamina of the thyroid follicles they often lie singly, or in groups of up to 5 cells, between which there are many fine interdigitations. The parafollicular cell nuclei have irregular contours and 1 or 2 nucleoli. In the cytoplasm, the ergastoplasm has many flattened sacs and there are many free ribosomes. There are typically residual bodies, dense secretory granules and occasional cilia (Figure 3).

A further specific influence of calcium acetate and vitamin D₃ on the parafollicular cells was shown by determining with the electron microscope the percentage of parafollicular cells in every 500 cells of thyroid secretions selected at random. The results are presented in the Table.

The results show that with the longest experimental period the percentage of parafollicular cells was nearly 4

times that of the control. The application of calcium acetate to the solution, with a simultaneously increased absorption of calcium in the intestine due to the vitamin D₃, results in an augmented production of thyrocalcitonin. The increased number of parafollicular cells shows a close relationship between these cells on the one hand and the increased calcium concentration of the blood in the other. The observed variability of the electron density of the secretory granules of the parafollicular cells may be interpreted as different stages of maturation of these granules, whereas the presence of residual bodies suggests a lysosomal participation in the control of the synthesis and secretion of the hormone. The results show that thyrocalcitonin is probably synthesized in the parafollicular cells of the thyroid gland.

No. of rats	Duration of experiment	Total quantita of calcium acetate and vitamin D ₃	% of parafollicular cells
2	controls	—	2.1
2	9 days	350 ml	4.1
2	14 days	505 ml	6.5
4	28 days	1300 ml	7.1

Zusammenfassung. Nach langdauernder Verabreichung von Calciumacetat und Vitamin D₃ kann eine Vermehrung der parafollikulären Zellen beobachtet werden. Die mögliche Bedeutung der parafollikulären Zellen bei der Bildung von Thyreocalcitonin wird diskutiert.

H. P. ROHR and K. HASLER

Institute of Pathology, Department of Electron-microscopy, Basel (Switzerland), 18 September 1967.

Einfluss von Angiotensin auf das argentaffine System des Meerschweinchens

Im Rahmen einer Untersuchung über das Verhalten der argentaffinen Zellen (a.Z.) des Meerschweinchendarms in vitro unter dem Einfluss verschiedener Substanzen fiel auf, dass die Zahl der a.Z. nach Zugabe von Hypertensin (CIBA) zur Inkubationsflüssigkeit, entgegen unseren Erwartungen, zunahm. Systematische Untersuchungen an einer grösseren Reihe von Tieren bestätigten diesen Befund.

Material und Methode. Die Versuche wurden mit dem Duodenum des Meerschweinchens gemacht. Es handelte sich um Tiere beiderlei Geschlechts, 600–900 g schwer, aus dem Stall des Kantonsspitals Lausanne. Als Inkubationslösung diente ein Krebs-Ringer-Bikarbonat-Puffer (pH 7,4), der vor und während des Versuchs mit Oxy-carbon (95% O₂ und 5% CO₂) begast wurde. Die Inkubationsgefässe mit je 10 ml der Lösung wurden während des Versuchs in einem Wasserbad von 37 °C mechanisch geschüttelt. Die Versuchsdauer betrug immer 10 min.

Die Meerschweinchen wurden mit Chloroform getötet. Die Entnahme des Duodenums erfolgte unmittelbar nach dem Tod. Das Darmstück wurde längs geöffnet und quer in ungefähr 5 mm breite Streifen geschnitten, die von proximal nach distal numeriert wurden. Nach Abschluss der Versuche erfolgte die Fixation in einer 4%igen gepufferten Formollösung. Das Material wurde in Paraplast eingebettet und 10 µ dick geschnitten. Die alkalische Diazokupplungsreaktion mit Echtrotsalz B (Bayer) und die Methode nach MASSON-HAMPERL dienten zur Darstellung der a.Z. Ihre Anzahl wurde lichtmikroskopisch an 100 längsgetroffenen Krypten bestimmt¹.

Da die Zahl der a.Z. am unbehandelten, sofort nach der Tötung des Tieres entnommenen und fixierten Duodenum von proximal nach distal stark abnimmt, haben wir in

dieser Arbeit nur das orale Drittel des Duodenums berücksichtigt.

Das Untersuchungsgut umfasst insgesamt 26 Meerschweinchen. In einer ersten Serie von 10 Tieren wurde der erste Darmstreifen sofort nach dem Tode des Tieres in der Formollösung fixiert (Gruppe A). Die Gewebstücke Nr. 2 und 3 wurden inkubiert. Hypertensin (CIBA) wurde wechselweise in einer Dosis von 2 µg/ml den Streifen 2 oder 3 zugesetzt. Das andere Darmstück blieb während des Versuchs in der reinen Inkubationslösung liegen. Die mit Hypertensin behandelten Streifen wurden in der Gruppe B zusammengefasst, diejenigen, die während der gleichen Zeit in der reinen Inkubationslösung lagen, in der Gruppe C.

In der zweiten Serie wurde die Hypertensinkonzentration auf 1 ng/ml reduziert. Bei den ersten 8 Tieren wurde sonst gleich vorgegangen wie bei der ersten Serie, bei den 2 letzten Tieren wurden dagegen die Streifen Nr. 3 sofort fixiert, die Stückchen 1 und 2 inkubiert und den Streifen 2 das Hypertensin zugesetzt. Wiederum wurden die entsprechenden Gewebstücke in Gruppen A, B und C zusammengefasst.

Da dem im Handel befindlichen Hypertensin noch Mannit beigefügt wird, untersuchten wir schliesslich das Verhalten der a.Z. des Duodenums von 6 weiteren Meerschweinchen unter dem Einfluss von 1 ng/ml Mannit.

Für die einzelnen Gruppen wurde das arithmetische Mittel (M) und die Standardabweichung (σ) berechnet.

¹ T. HARDMEIER und CHR. HEDINGER, Virchows Arch. path. Anat. Physiol. 338, 332 (1965).