

## АНАЛІЗ МІКРОМОРФОЛОГІЇ ТА РОЗПОДІЛУ РЕЦЕПТОРІВ ЛЕКТИНІВ В ЕНДОМЕТРІЇ ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ГІПО- ТА ГІПЕРТИРОЇДИЗМУ

Є.А.Согомоян, О.Д.Луцик

Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького

**Резюме.** Установлено, що порушення функції щитоподібної залози викликають зміни кількісного складу деяких клітинних та стромальних структур ендометрія (лейкоцити, децидуальні клітини, колагенові волокна). Гіпо- та гіпертироїдизм супроводжуються певними якісними змінами вуглеводних детермінант у структурах ендометрія. При гіпертироїдизмі лектини (особливо MPFA) можуть слугувати маркерами видозмінених колагенових волокон. Одержані результати демонструють можливості використання в гістохімії вуглеводів нового лектину – міцени чистої.

**Ключові слова:** ендометрій, гіпотироїдизм, гіпертироїдизм, лектинова гістохімія.

За даними експериментальних та клінічних досліджень [1-5], розлади функції щитоподібної залози можуть слугувати причиною патологічних змін органів жіночої репродуктивної системи. Проте в науковій літературі практично відсутні дані щодо гістотопографії рецепторів лектинів у структурних компонентах матки, а також особливостей її мікроморфології за умов гіпо- та гіпертироїдизму. Водночас численні публікації [6-12] свідчать про важливу роль вуглеводів та вуглеводовмісних біополімерів, що є рецепторами лектинів, у гістофізіології нормальних структур організму та причетності їх до розвитку різноманітних патологічних станів.

**Мета дослідження.** Вивчити гістоструктуру ендометрія (Ем) та гістотопографію рецепторів лектинів у тканинних компонентах слизової оболонки матки при експериментальному гіпо- та гіпертироїдизмі. Робота є фрагментом планової науково-дослідної теми Львівського національного медичного університету (№ 0107U001048).

**Матеріал і методи.** Досліди проведені на 45 статевозрілих самках щурів лінії Вістар, по 15 тварин у трьох групах (контроль, гіпо- та гіпертироїдизм). Гіпотироїдний стан створювали за допомогою мерказолілу ("Здоров'я", Україна) у добовій дозі 10 мг/кг; гіпертироїдизм моделювали L-тироксинам ("Фармак", Україна) у добовій дозі 100 мг/кг. Мерказоліл і тироксин додавали в їжу у вигляді порошку щоденно про-

тягом 5 тижнів. Утримання тварин та маніпуляції проводили відповідно до "Загальних етичних принципів експериментів на тваринах" (Київ, 2001). Тварин піддавали евтаназії на стадії дієструс шляхом передозування ефірного наркозу. Контроль ефективності моделювання гіпо- та гіпертироїдизму проводили шляхом вивчення макро- та мікроморфології щитоподібних залоз, враховуючи наявність "струмогенної реакції" при введенні мерказолілу та морфологічних ознак зниження функції залози при введенні гіпертироїдних доз тироксину. Гістологічні проби матки фіксували у 4% нейтральному формаліні, після чого поміщали в парафін за стандартною методикою. Зрізи товщиною 5-7 мкм фарбували гематоксином і еозином.

Вуглеводні детермінанти структур Ем досліджували з використанням 6 лектинів: сочевиці (LCA), нарциса (NPA), кропиви (UDA), ікри судака (LLA), ікри окуня (PFA), а також нового препарату з представника підцарства грибів-базидоміцетів – міцени чистої (MPFA). Вуглеводна специфічність лектинів подана у таблиці, для групи конвенціональних лектинів – охарактеризована у монографії В.О.Антонюка [6]. Всі лектини очищені та кон'юговані з пероксидазою хрому в лабораторії "Лектинотест" доктором фармацевтичних наук В.О.Антонюком. Візуалізацію рецепторів лектинів здійсню-

Таблиця

## Вуглеводна специфічність використаних лектинів та характеристика їх зв'язування зі структурами ендометрія гіпо- та гіпертироїдних щурів

Лектини	Вуглеводна специфічність	Група тварин	Тканинні компоненти ендометрія					
			епітелій поверхні	залози		строма (колагенові волокна)	децидуальні клітини	лейкоцити
				епітелій	секрет			
Сочевиці (LCA)	D Man > D Glc	Контроль	+++	++	+	++	++	++
		Гіпотироїдизм	+++	++	+	++	++	++
		Гіпертироїдизм	+++	++	+	++	++	++
Нарциса (NPA)	Man ( $\alpha$ 1-6) Man	Контроль	++++	+++	+	+++	+++	+++
		Гіпотироїдизм	+++++	++++	++	+++	++++	++++
		Гіпертироїдизм	+++++	++++	++	+++	++++	++++
Кропива (UDA)	D Glc NAc	Контроль	+++	++	+	++	++	-
		Гіпотироїдизм	+++	++	+	++	++	+++
		Гіпертироїдизм	+++	+++	++	++++	++++	+
Ікри судака (LLA)	L Fuc	Контроль	+++	+++	++	+	+	++++
		Гіпотироїдизм	++++	++++	++	+++	++	++++
		Гіпертироїдизм	+++	+++	++	+ -	+	++++
Ікри окуня (PFA)	L Fuc	Контроль	++	++	+	+	+	++++
		Гіпотироїдизм	+++	+++	++	++	++	++++
		Гіпертироїдизм	+++	+++	++	+++	++	++++
Міцени чистої (MPFA)	GlcNAc( $\beta$ 1-2) Man( $\alpha$ 1-6)/ ( $\alpha$ 1-2)	Контроль	++++	+++	+++	+++	+++	-
		Гіпотироїдизм	+++	++	++	++	++	+++
		Гіпертироїдизм	+++	++	++	++++	+++	-

Примітки: D Man – D-маноза; D Glc – D-глюкоза; D Glc NAc – N-ацетил D-глюкозамін; L Fuc – L-фукоза.

вали діамінобензидину тетрагідрохлоридом (Sigma, США) в присутності перекису водню (А.Д.Луцик и др., 1987). Мікроскопію і фотографування препаратів проводили з використанням мікроскопа Carl Zeiss Jena Ng, доукомплектованого цифровою камерою Canon IXUS 700.

**Результати дослідження та їх обговорення.** Аналіз мікроструктури матки на оглядових препаратах виявив збільшення кількості лейкоцитів у стромі Ем гіпотироїдних щурів порівняно з контролем (рис. 1, А-Г). Характерними для Ем гіпертироїдних тварин були: гіперемія судин, збільшена кількість децидуальних клітин та підвищений вміст потовщених колагенових волокон у периферійних ділянках (рис. 1, Д-Е). Особливості гістотопографії та кількісного вмісту рецепторів лектинів у структурних компонентах Ем щурів у нормі та в умовах експерименту описані нижче.

*Лектин сочевиці (LCA).* У групі контроль-

них тварин гістологічна картина Ем при використанні цього лектину характеризувалася слабким зафарбовуванням всіх структурних елементів, зазначених у таблиці, окрім апікальних частин клітин поверхневого епітелію, де реакція була інтенсивнішою. В обох дослідних групах різниці від контролю не було.

*Лектин нарциса (NPA).* В Ем інтактних щурів кількість рецепторів лектину NPA була вищою порівняно з кількістю рецепторів LCA. Реактивність поверхневого епітелію в порівнянні з іншими структурами Ем виявилася сильнішою, так само, як і з лектином сочевиці. В обох дослідних групах (гіпо- та гіпертироїдних тварин) у всіх досліджуваних структурах Ем експресія рецепторів лектину NPA була значно інтенсивнішою порівняно з контролем, що свідчить про додаткову експресію при тироїдній патології вуглеводних детермінант D-манози. У групі щурів з гіпертироїдизмом, окрім цього,

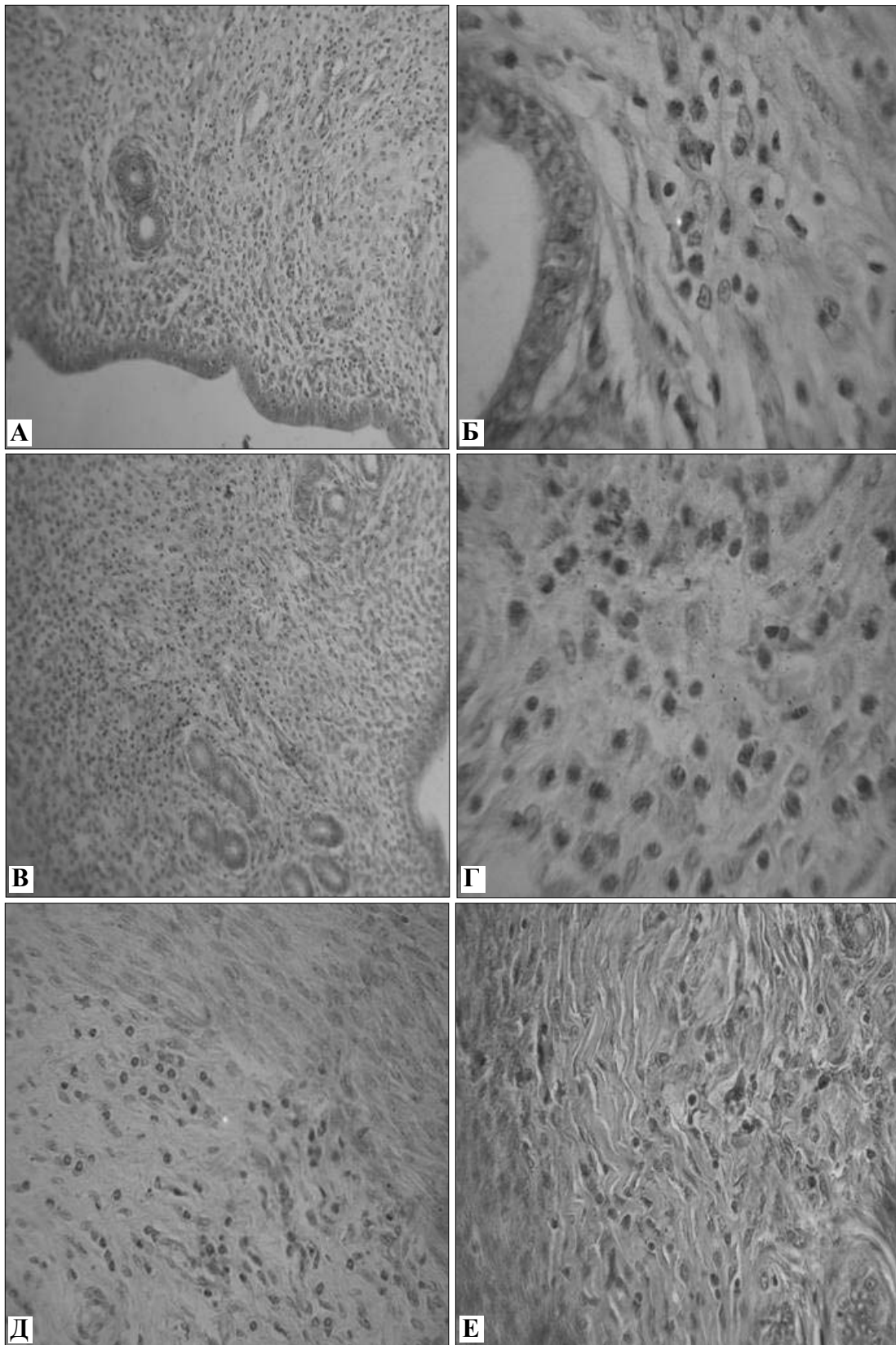


Рис. 1. Ендометрій щура: А і Б – помірна кількість лейкоцитів (контроль), зб. 200 $\times$  і 900 $\times$ ; В і Г – збільшення кількості лейкоцитів при гіпотирозі, зб. 200 $\times$  і 900 $\times$ ; Д – відсутність колагенових волокон у периферійних ділянках ендометрія (контроль), зб. 400 $\times$ ; Е – потовщені колагенові волокна на периферії ендометрія при гіпертироїдизмі, зб. 400 $\times$ .

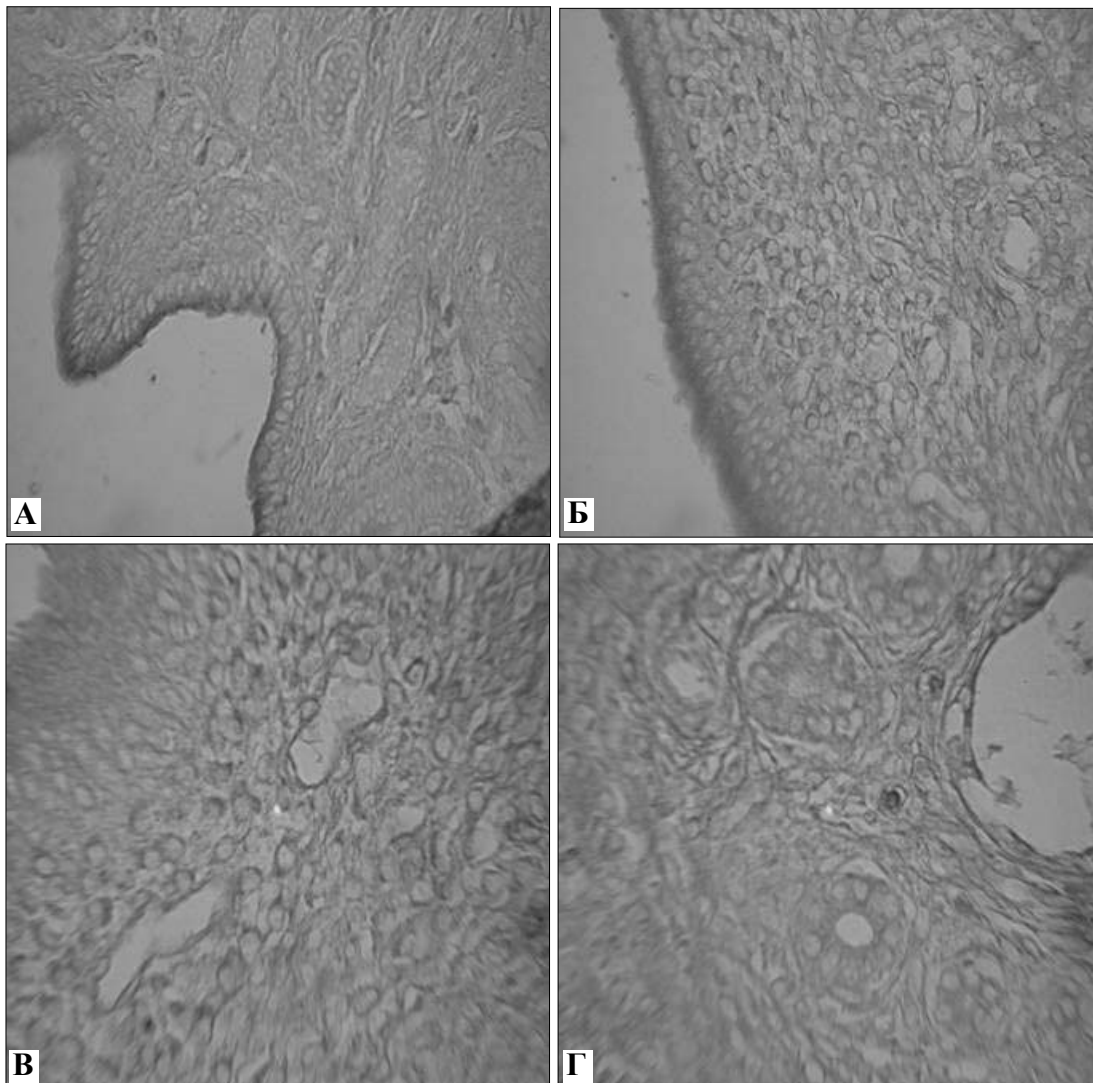


Рис. 2. Реакція компонентів ендометрія з лектином UDA: А – мала кількість слабкопозитивних децидуальних клітин (контроль), зб. 400<sup>х</sup>; Б – підвищена реактивність збільшеної кількості децидуальних клітин при гіпертироїдизмі, зб. 400<sup>х</sup>; В – інтенсивно реактивні децидуальні клітини, зб. 600<sup>х</sup>; Г – помірна реактивність залоз ендометрія, зб. 600<sup>х</sup>.

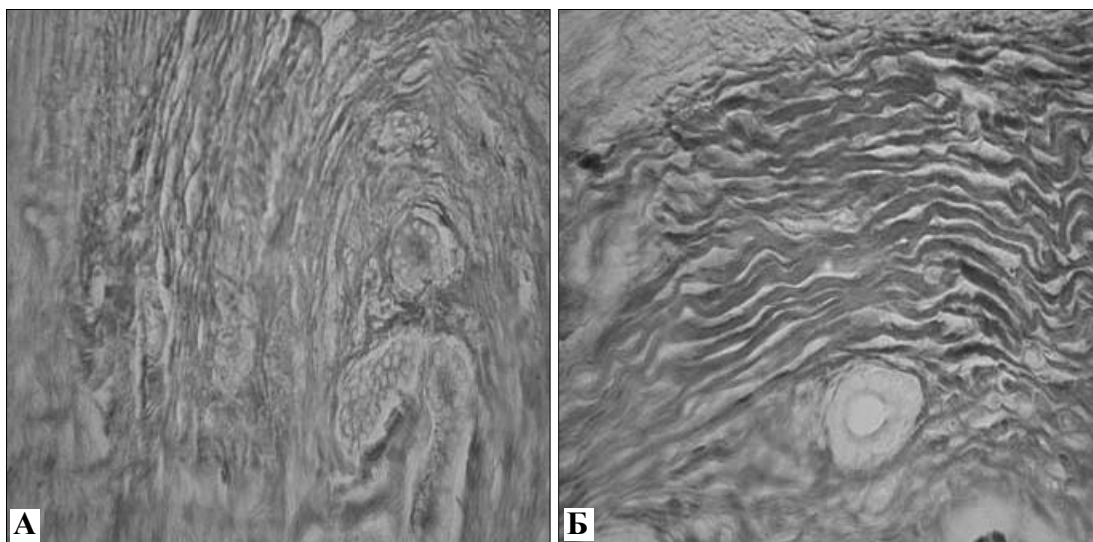


Рис. 3. Реакція компонентів ендометрія з лектином MPFA, зб. 400<sup>х</sup>: А – мала кількість колагенових волокон (контроль); Б – інтенсивна реакція потовщених колагенових волокон при гіпертироїдизмі.

інтенсивно зафарбовувалися пучки потовщених колагенових волокон, особливо в антимезометральній частині Ем, на межі з міометрієм. Водночас у гіпотироїдних тварин в аналогічних ділянках Ем колагенові волокна мали дезінтегрований вигляд (дуже тонкі пучки, розмежовані великими прошарками основної речовини).

*Лектин кропиви (UDA)* давав слабку реакцію зі всіма компонентами Ем (рис. 2, А), крім апікальних частин поверхневих епітеліоцитів. Така ж слабка реакція, як і в контрольних тварин, спостерігалася при гіпотироїдизмі, за винятком великої кількості лейкоцитів, що інтенсивно реагували з лектином UDA. За умов гіпертироїдизму експресія рецепторів даного лектину була сильнішою, ніж у контролі, з підвищеною реактивністю децидуальних клітин (рис. 2, Б-Г), а також колагенових волокон периферійних ділянок Ем, що свідчить про додаткову експресію цими структурами залишків N-ацетил-D-глюкозаміну.

*Лектин ікри судака (LLA)* давав у нормі помірну реакцію з клітинами поверхневого епітелію та залоз, слабку – з компонентами строми, досить інтенсивну – з ядерними глікокон'югатами лейкоцитів. Експресія рецепторів цього лектину у гіпотироїдних щурів була аналогічною контролю, але інтенсивність реакції була вища, ніж у контрольній групі. За умов гіпотироїдизму виявлено також збільшену кількість лейкоцитів. У гіпертироїдних тварин експресія рецепторів лектину LLA в епітеліальних структурах зберігалася на рівні контролю. У цій дослідній групі також давала слабку реакцію строма: колагенові волокна були погано помітні на відміну від значної реактивності з іншими вищезгаданими лектинами. Водночас лейкоцити за умов гіпертироїдизму зафарбовувалися інтенсивніше і їх кількість була збільшеною.

*Лектин ікри окуня (PFA)* в контролі виявляв відносно слабку афінність до всіх структур, крім лейкоцитів, що забарвлювалися інтенсивно і в великій кількості були розсіяні у стромі Ем. В обох піддослідних групах тварин (гіпо- та гіпертироїдних) експресія рецепторів лектину окуня у всіх гістологічних компонентах слизової оболонки матки виявилася інтенсивнішою порівняно з контролем, що свідчить про підвищену експресію фукозогліканів.

*Лектин міцени чистої (MPFA)*. В нормі спостерігалася інтенсивна реактивність струк-

тур Ем з цим лектином, за винятком негативної реакції лейкоцитів. Характерним було виражене зв'язування лектину MPFA з поверхневим епітелієм і секретом залоз. У гіпотироїдних тварин експресія лектину MPFA була слабшою, ніж у контролі; відмінності мікоморфології Ем при гіпотироїдизмі доповнювала зменшена кількість залоз і велика кількість добре помітних лейкоцитів. У групі гіпертироїдних тварин меншу кількість глікокон'югатів лектину MPFA порівняно з контролем було виявлено у поверхневих і залозистих епітеліоцитах. Негативною також була реакція залозистого секрету, не виявлялися лейкоцити. Водночас в Ем гіпертироїдних щурів задокументована наявність великої кількості потовщених колагенових волокон з інтенсивною реактивністю з лектином MPFA. Волокна оточували залози, а також формували грубі пучки на периферії Ем в антимезометральній зоні (рис. 3).

Виявлена нами особливість гістоструктури матки гіпотироїдних тварин, що виражалася збільшенням кількості лейкоцитів у стромі Ем, може слугувати непрямым свідченням порушення балансу гормонів яєчника при означеній патології. Адже саме лейкоцити є тим особливим типом клітин, що зумовлюють мікроскопічну картину вагінального мазка у дієстральній фазі статевого циклу, який, у свою чергу, залежить від збалансованої дії естрогенів і прогестерону. З другого боку, як дані літератури, так і дані наших попередніх досліджень [9] свідчать про вплив тироїдної патології на функцію жіночих гонад. Залежністю від посиленої дії прогестерону можна пояснити і такі зміни в Ем гіпертироїдних самок, як судинна гіперемія і збільшення кількості децидуальних клітин. Це також узгоджується з нашими попередніми даними про лютеїнізацію яєчників за умов гіпертироїдизму.

Заслуговує на увагу також феномен посиленого утворення колагенових волокон у власній пластинці Ем під впливом високих доз тироксину. Наші спостереження узгоджуються з даними S.Saha et al. [12] стосовно порушення біосинтезу колагену і його посиленої деградації в яєчниках щурів за умов гіпотироїдизму.

Вивчення гістотопографії глікокон'югатів у матці щурів показало, що всі використані нами лектини давали позитивну реакцію різного ступеня вираженості зі всіма досліджуваними структурами Ем, зокрема: з епітелієм поверхні і

залоз (апикальна частина клітин), секретом частини залоз, цитоплазмою децидуальних клітин, стромою (колагенові волокна) і лейкоцитами, в яких виявлялися переважно глікокон'югати ядра, але не цитоплазми.

У гістологічних структурах Ем щурів з експериментальним гіпотирозидизмом у порівнянні з контролем було виявлено редукцію рецепторів лектину МРФА. Натомість кількість глікокон'югатів, реактивних з лектинами NPA, LLA та PFA, збільшувалася, а рецепторів лектинів сочевиці і кропиви залишалася на рівні контролю. Ці дані можуть свідчити про підвищену експресію залишків D-манози і L-фукози, ймовірно, за рахунок неприєднання N-ацетил-D-глюкозаміну до синтезованих епітеліоцитами олігосахаридних ланцюгів. Для групи гіпотирозидних тварин характерною була також інтенсивна реакція лейкоцитів з більшістю лектинів, навіть за умов одночасного зниження реактивності всіх інших структур (зокрема, з лектином МРФА). У групі тварин з гіпертирозидизмом кількість глікокон'югатів більшості використаних лектинів у структурах Ем зростала. Особливо це стосувалося потовщених та різко позитивних колагенових волокон, пучки яких виявлялися переважно в антимезометральній зоні Ем (лектини NPA, UDA, PFA та МРФА).

Отже, ефект колагенізації строми Ем в гіпертирозидних тварин, виявлений на оглядових препаратах, за даними лектинової гістохімії отримав підтвердження і доповнення, яке стосується зміни вуглеводного складу волокнистих структур під впливом підвищеного рівня тироксину в організмі. Правдоподібно, причиною означеного феномену може бути порушення процесів фізіологічної деградації колагену, індуко-

ване гіпертирозидизмом. Якщо порівняти отримані нами дані щодо змін реактивності з лектинами структурних компонентів Ем під впливом тирозидної патології із закономірностями змін рецепторів лектинів за умов тієї самої патології, але з використанням іншого тест-об'єкта – слинних залоз (А.Д.Луцик и др., 1987), можна виявити як спільні, так і відмінні ознаки. До перших належить нагромадження у складі глікокон'югатів залишків D-манози і зниження вмісту N-ацетил-D-глюкозаміну, до других – нагромадження L-фукози в структурах Ем. Окрім цього, у слинних залозах зміни при гіпо- та гіпертирозидизмі характеризувалися односпрямованістю, а в Ем зміни при обох видах патології були різноспрямованими.

**Висновки та перспективи подальших досліджень.** 1. Експериментальний гіпо- та гіпертирозидизм викликає у щурів зміни кількісного складу деяких клітинних і стромальних структур ендометрія – нагромадження лейкоцитів в умовах гіпотирозидизму та децидуальних клітин і колагенових волокон – при гіпертирозидизмі. 2. Експериментальні порушення функції щитоподібної залози супроводжуються якісними змінами і перерозподілом вуглеводних детермінант у досліджуваних структурах матки. Зміни лектинових рецепторів більш виражені у тварин з гіпертирозидизмом. 3. При гіпертирозидизмі лектини можуть слугувати маркерами видозмінених колагенових волокон, що виражається підвищеною афінністю до останніх більшості лектинів, особливо лектину МРФА. 4. Перспективою подальших досліджень вважаємо розширення спектру лектинів для всебічної характеристики вуглеводних детермінант ендометрія.

### Література

1. Марчук Н.Ю. Нейроендокринні порушення менструального циклу / Н.Ю.Марчук // Пробл. ендокр. патол. – 2006. – № 1. – С. 44-56.
2. Тітенко Т.М. Особливості гіпофізарно-яєчникової системи при дифузних формах ендемічного зобу / Т.М.Тітенко // ПАГ. – 2006. – № 5. – С. 97-100.
3. Тітенко Т.М. Особливості порушень менструальної функції при дифузних формах ендемічного зобу / Т.М.Тітенко // ПАГ. – 2006. – № 4. – С. 88-91.
4. Johnson C.A. Thyroid issues in reproduction / C.A.Johnson // Clin. Tech. Smalt. Pract. – 2002. – № 3. – P. 129-132.
5. Marciello F. Multiple ovarian cysts in a young girl with severe hypothyroidism / F.Marciello, M.R.Poggiano, M.Del Prete // Thyroid. – 2007. – № 12. – P. 1289-1293.
6. Антонюк В.О. Лектини та їх сировинні джерела / Антонюк В.О. – Львів: Кварт, 2005. – 550 с.
7. Волошин Н.А. Лектини животного и растительного происхождения: роль в процессах морфогенеза / Н.А.Волошин, Е.А.Григорьева // Теор. мед. – 2005. – Т. 11, № 2. – С. 223-237.
8. Пащенко С.Н. Определение экспрессии рецепторов лектинов для прогнозирования эффективности лимфаденэктомии у больных карциномой молочной железы T1-2NOMO / С.Н.Пащенко, И.Д.Паламарчук, Н.А.Волошин // Онкол. – 2005. – № 3. – С. 205-208.
9. Согомонян С.А. Особливості гістоструктури та лектинової гістохімії яєчників самок щура при експериментальному гіпо- та гіпертирозидизмі / С.А.Согомо-

нян, О.Д.Луцик // *Світ біол. та мед.* – 2009. – № 2. – С. 116-124. 10. Ушаков А.В. Локалізація рецепторів лектинов в міокарді людини в нормі і при сахарному діабеті / А.В.Ушаков, Е.Ю.Шаповалова // *Клінічна анатомія та оперативна хірургія.* – 2005. – Т. 4, № 2. – С. 9-11. 11. Чайковський Ю.Б. Порівняльний лектиногістохімічний аналіз ендометрія в нормі, при гіперплазії та аденокарциномах / Ю.Б.Чайковський, І.В.Копійка // *Вісн. пробл. біол. і мед.* – 2006. – № 2. – С. 334-337. 12. Saha S.K. Differential expression of procollagen lysine 2-oxoglutarat 5-deoxygenase and matrix metalloproteinase isoforms in hypothyroid rat ovary and desintegration of extracellular matrix / S.K.Saha, P.Ghosh, A.Konar [et al.] // *J. Endocrinol.* – 2005. – Vol.146, № 7. – P. 2963-2975.

#### АНАЛИЗ МИКРОМОРФОЛОГИИ И РАСПРЕДЕЛЕНИЯ РЕЦЕПТОРОВ ЛЕКТИНОВ В ЭНДОМЕТРИИ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ГИПО- И ГИПЕРТИРОИДИЗМЕ

**Резюме.** Нарушения функции щитовидной железы вызывают изменения количественного состава некоторых клеточных и стромальных структур эндометрия (лейкоциты, децидуальные клетки, коллагеновые волокна). Гипо- и гипертироидизм сопровождаются определенными качественными изменениями углеводных детерминант в структурах эндометрия. При гипертироидизме лектины (особенно MPFA) могут служить маркерами видоизмененных коллагеновых волокон. Полученные результаты демонстрируют возможности использования в гистохимии углеводов нового лектина – мицены чистой.

**Ключевые слова:** эндометрий, гипотирозидизм, гипертироидизм, лектиновая гистохимия.

#### ANALYSIS OF MICROMORPHOLOGY AND LECTIN RECEPTORS DISTRIBUTION OF THE ENDOMETRIUM UNDER THE CONDITIONS OF EXPERIMENTAL HYPO- AND HYPERTHYROIDISM

**Abstract.** It has been established that dysfunctions of the thyroid gland bring about changes of the quantitative composition of some cellular and stromal structures of the endometrium (leukocytes, decidual cells, collagen fibers). Hypo- and hyperthyroidism are accompanied with certain qualitative changes of carbohydrate determinants in the structures of the endometrium. In case of hyperthyroidism lectins (particularly MPFA) may serve as markers of modified collagen fibers. The obtained findings demonstrate potentialities of using carbohydrates of a new lectin – pure mycena.

**Key words:** endometrium, hypothyroidism, hyperthyroidism, lectin histochemistry.

Danylo Halyts'kyi National Medical University (L'viv)

Надійшла 06.05.2010 р.

Рецензент – д. м. н. І.Ю.Олійник (Чернівці)