

Є.А.Согомонян

Львівський національний
медичний університет
імені Данила Галицького

Ключові слова: лектино-
ва гістохімія, яєчники та
ендометрій щура, гіпотир-
оїдизм, гіпертироїдизм.

Надійшла: 12.11.2010
Прийнята: 21.12.2010

УДК 620.217.44.001:6:647:616-005

ВПЛИВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ГІПО- ТА ГІПЕРТИРОЇДИЗМУ НА ЕКСПРЕСІЮ СІАЛОГЛІКАНІВ СТРУКТУРАМИ ЯЄЧНИКІВ ТА ЕНДОМЕТРІЯ ЩУРА

Резюме. З використанням 7 лектинів різної вуглеводної специфічності (SNA, WGA, RCA, UDA, SBA, HPA та PNA) проведено гістохімічне дослідження експресії сіалогліканів та поєднаних з ними олігосахаридних детермінант структурними компонентами яєчників та ендометрія щура в нормі, а також під впливом експериментального гіпо- та гіпертироїдизму. Матеріал фіксували у 4% нейтральному формаліні та заливали у парафін. Були використані кон'югати лектинів з пероксидазою, візуалізацію досягали діамінобензидином. Встановлено, що як гіпо-, так і гіпертироїдизм мають суттєвий вплив на глікополімери яєчників та матки, що в умовах експерименту проявлялося у різноспрямованій і суто специфічній для кожної мікроструктури зміні сіалогліканів, а також вуглеводних детермінант DGal, DGalNAc та DGlcNAc. Порівняння двох модельованих патологічних станів показало, що гіпертироїдизм чинить більш виражений вплив на органи жіночої репродуктивної системи. Порівняння яєчників та ендометрія виявило, що останній має вищу чутливість до дисбалансу тироїдних гормонів, свідченнями чого, зокрема, були масивна лейкоцитарна інфільтрація та колагенізація строми ендометрія. Корекція гіпотирозу тироксином сприяла певній нормалізації як загальноморфологічних (лейкоцити, колагенові волокна), так і гістохімічних (сіалоглікани) характеристик, однак нормалізації рецепторів лектинів SBA, HPA та PNA за час проведення експерименту досягнуто не було. Як у нормі, так і при модельованих патологічних станах окремі лектини виявилися достатньо селективними гістохімічними маркерами структурних компонентів яєчника та ендометрія, що дозволяє рекомендувати їх для використання у майбутньому.

Морфологія. – 2010. – Т. IV, № 4. – С. 46-56.
© Є.А.Согомонян, 2010

Sogomonian E.A. Influence of experimental hypo- and hyperthyroidism on the expression of sialoglycans in rat ovary and endometrium.

Summary. 7 lectins with different carbohydrate affinities (SNA, WGA, RCA, UDA, SBA, HPA and PNA) were used for histochemical investigation of sialoglycans and related oligosaccharidic determinants in rat ovary and endometrium under experimental hypo- and hyperthyroidism. Tissue samples were fixed in 4% neutral formalin and embedded in paraffin. Lectin-peroxidase labels were visualized by diaminobenzidine. Both hypo- and hyperthyroidism significantly influenced ovarian and endometrial glycopolymers: rearrangement of NeuNAc, DGlcNAc, DGalNAc and DGal determinants in each structural component demonstrated specific and differential manifestations. It was detected that hyperthyroidism in comparison with hypothyroidism influenced carbohydrates of female reproductive system more strongly; endometrium was more susceptible to thyroxin-modulated impairments in comparison with ovaria. Treatment of hypothyroidism with thyroxin normalized leucocyte count, quantitative and qualitative characteristics of collagen fibers and expression of sialoglycans, but not SBA, HPA and PNA receptor sites. Selective labeling of zona pellucida and corona radiata, luteocytes, atretic follicles and leucocytes was detected in ovaria; in endometrium lectin label was attributed to leucocytes and collagen fibers, epithelium and secretory components of uterine glands.

Key words: lectin histochemistry, rat ovary and endometrium, hypo- and hyperthyroidism.

Вступ

Порушення функції щитоподібної залози посідають одне з перших місць серед ендокринної патології. Ними уражено не менш як 3% населення світу і швидкість зростання кількості цих хворих упродовж минулих 10 років залишається незмінно високою. В Україні число випад-

ків тироїдної патології за останнє десятиліття зросло більш ніж утричі (Шелестова Л.П., 2004). Карпатський регіон, відомий достатньо високим ступенем йодного дефіциту, є внаслідок цього ендемічним щодо захворювань щитоподібної залози з оцінкою ендемії як важкої (Паньків В.І. та співавт., 2005). Уваги заслуговує також той

факт, що покоління дітей із постчорнобильським синдромом і ураженнями щитоподібної залози нині досягло репродуктивного віку (Муравлева О.В. та співавт., 2004).

За даними багатьох експериментальних та клінічних досліджень, дисбаланс тиреоїдних гормонів може обумовлювати низку патологічних відхилень у діяльності органів жіночої репродуктивної системи. Зокрема, як гіпо-, так і гіпертироїдизм можуть слугувати причиною порушень статевого дозрівання та менструальної функції, зниження фертильності, зростання частоти гінекологічної патології, самовільних абортів і мертвонароджень (Abe Y. et al., 1997; Абусуев С.А. и соавт., 2000; Татарчук Т.Ф. и соавт., 2003; Marciello F. et al., 2007). Аналіз доступної фахової літератури показав, що при наявності значної кількості клінічних спостережень стосовно негативного впливу дисфункції щитоподібної залози на жіночу репродуктивну систему, закономірності змін вуглеводних детермінант органів жіночої репродуктивної системи під дією дисбалансу тиреоїдних гормонів залишаються практично не вивченими.

Разом із тим, численні публікації свідчать про важливу роль вуглеводовмісних біополімерів як у функціонуванні нормальних структур організму, так і їх залучення до механізмів розвитку різноманітних форм патології (Nicolson G.L., 1971; Roth J., 1978; Луцик А.Д. и соавт., 1989; Шаповалова Е.Ю., Луцик А.Д., 2000). Глікокон'югатам належить виключно важлива роль у гістофізіології репродукції; вуглеводні детермінанти в числі перших пошкоджуються при розвитку патологічних процесів, вони можуть служити ранніми та інформативними маркерами ушкоджень органів жіночої статеві системи (Wu T.C. et al., 1984; Lee M.C., Damjanov I., 1985; Волкова О.В. и соавт., 1987; Aviles M. et al. 1997; Parillo F. et al., 2003; Волошин Н.А., Пашенко С.Н., 2004; Пашенко С.Н. и соавт., 2005; Чайковський Ю.Б., Копійка І.В., 2006), тому вивчення змін глікому жіночих репродуктивних органів при тиреоїдній патології становить значний інтерес як для теоретичної, так і клінічної медицини.

Чутливими та селективними маркерами вуглеводних детермінант біополімерів є лектини. Незважаючи на 40-річне застосування у різних ділянках гісто- та цитохімії (Nicolson G.L., 1971; Roth J., 1978; Луцик М.Д. и соавт., 1980; Хомутовский О.А. и соавт., 1986; Луцик А.Д. и соавт., 1989), подальше їх використання в якості інструментів дослідження характеру змін глікокон'югатів органів і тканин в нормі та при різних формах патології продовжує залишатися актуальним завданням (Антонюк В.О., 2005). Серед рецепторів лектинів в органах жіночої репродуктивної системи важливе місце належить сіалогліканам. Зокрема, адгезивні та опорно-механічні властивості органних структур яєчника і матки

забезпечують сіалоглікопротеїни екстрацелюлярного матриксу фібронектин та ламінін. За даними деяких авторів, сіалювані детермінанти тканинних глікополімерів, окрім модуляції транспорту метаболітів через мембрани організму, можуть бути залучені до механізмів захисту від патогенних чинників (Scocco P., Pedini V., 2006).

Мета

З використанням лектинів різної вуглеводної специфічності дослідити експресію кінцевих залишків сіалової кислоти та можливого десіалювання вуглеводних детермінант тканинних структур яєчників та ендометрія щура в умовах гіпо- та гіпертироїдизму, а також при корекції гіпотиреоїдизму тироксином.

Матеріал та методи

Дослід поставлено на 55 самках щурів лінії Wistar, по 15 тварин у групі (контроль, гіпо- та гіпертироїдизм) і 10 тварин у групі з корекцією гіпотиреоїдизму. Гіпотиреоїдний стан досягали використанням мерказолілу у добовій дозі 10 мг/кг; гіпертироїдизм викликали L-тироксинам у добовій дозі 100 мкг/кг маси тіла тварин. Корекцію гіпотиреоїдизму проводили тироксином у дозі 30 мкг/кг, яку вводили одночасно з мерказолілом. Мерказоліл ("Здоров'я", Харків) і тироксин ("Фармак", Київ) додавали у їжу у вигляді порошку щоденно протягом п'яти тижнів. Утримання тварин та маніпуляції з ними проводилися у відповідності до положень "Загальних етичних принципів експериментів на тваринах", ухвалених І Національним конгресом з біоетики (Київ, 2001). Тварин піддавали евтаназії на стадії дієструсу.

Контроль ефективності моделювання стану гіпо- та гіпертироїдизму проводили шляхом дослідження морфології щитоподібних залоз, враховуючи наявність "струмогенної реакції" при введенні мерказолілу і морфологічні ознаки зниження функції залози при введенні гіпертироїдних доз тироксину. Гістологічні проби яєчників та матки фіксували у 4% нейтральному формаліні з наступною заливкою у парафін за стандартною методикою.

Вуглеводні детермінанти структур яєчників та ендометрія досліджували з використанням сіалоспецифічних лектинів SNA, WGA та RCA. Для виявлення субтермінальних моносахаридних залишків DGlcNAc, DGalNAc та DGal у складі олігосахаридних данцюгів біополімерів (Антонюк В.О., 2005; Амбарова Н.О., 2009), експресію яких можна очікувати внаслідок порушення процесів кінцевого глікозилування (сіалювання) при дисбалансі тиреоїдних гормонів, додатково до сіалоспецифічних лектинів було використано лектини UDA, SBA, HPA та PNA (табл.1, 2).

Усі використані у роботі лектини були очищені та кон'юговані з пероксидазою хрому доктором фармакологічних наук В.О.Антонюком.

Візуалізацію рецепторів лектинів здійснювали діамінобензидину тетрагідрохлоридом (Sigma, США) в присутності перекису водню, як описано раніше (Луцик А.Д. и соавт., 1989). Мікроскопію і фотографування препаратів проводили з використанням мікроскопа Carl Zeiss Jena Ng, доукомплектованого цифровою камерою Canon IXUS 700.

Результати та їх обговорення

Результати зв'язування лектинів з мікросруктурами яєчників та ендометрія тварин різних дослідних груп представлено у таблицях 1 і 2, а також на рисунках 1-4.

Лектин бузини чорної (SNA) серед структур яєчника в нормі з найвищою інтенсивністю взаємодіяв з лютеоцитами жовтих тіл; дещо слабшу реактивність демонстрували клітини центральної частини жовтих тіл, структурні компоненти фолікулів (рис. 1А).

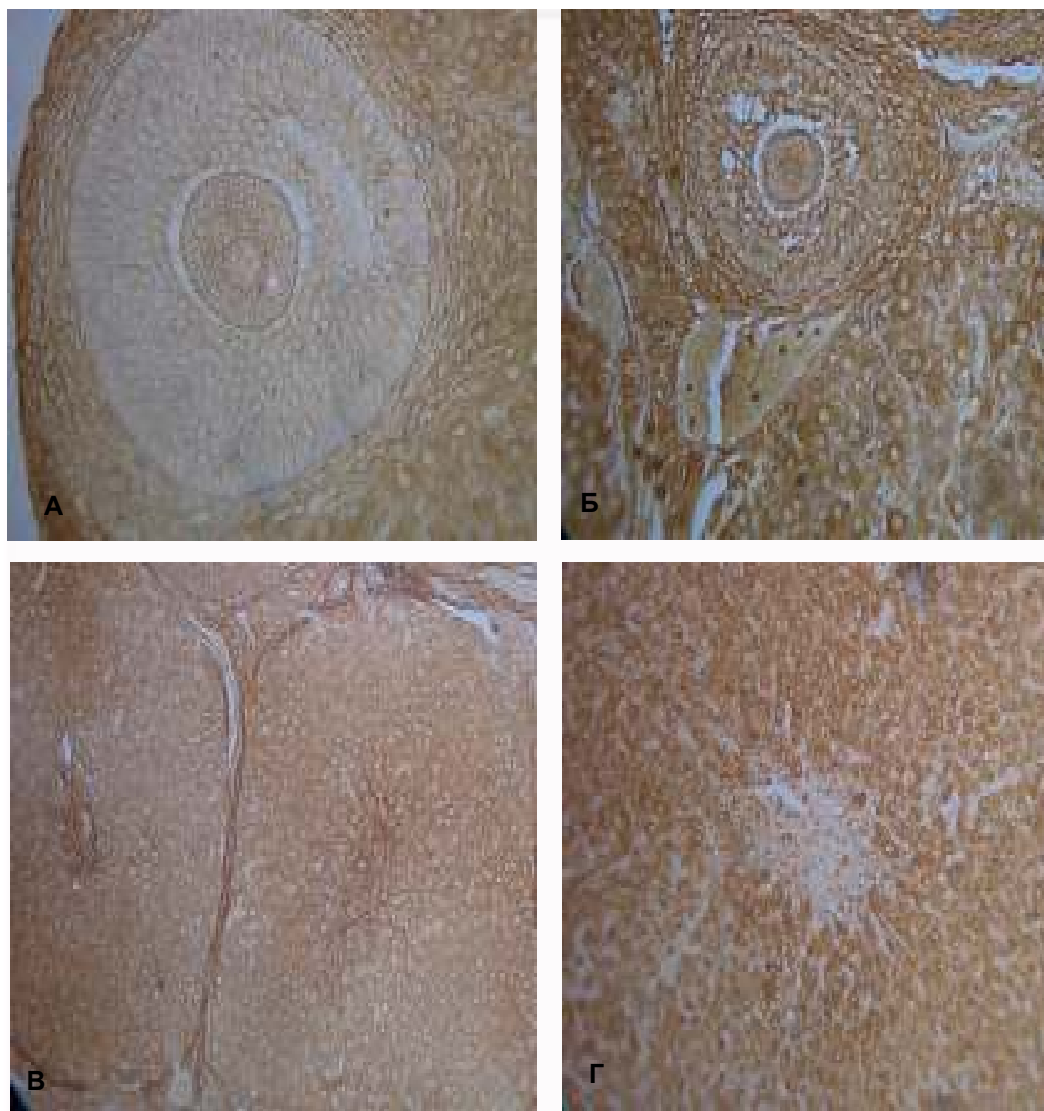


Рис.1. Експресія сіалогліканів структурами яєчника. Обробка лектином SNA. ×400 (А, Б); ×200 (В, Г). А. Ростучий фолікул яєчника щура контрольної групи: слабо позитивна реакція клітин гранульози, інтенсивніше забарвлення цитоплазматичної зернистості та плазмолемі овоцита, теки фолікула, цитоплазми лютеоцитів. Б. Ростучий фолікул та фрагмент жовтого тіла яєчника при гіпотирозидизмі: посилення реактивності фолікулярного епітелію, цитоплазматичної зернистості овоцита та лютеоцитів; збільшення кількості лейкоцитів. В. Жовті тіла яєчника при поєднаному застосуванні мерказолілу з тироксином (група корекції): ослаблення реактивності лютеоцитів, центральна частина жовтих тіл зафарбована інтенсивніше, нормалізація кількості лейкоцитів. Г. Жовте тіло яєчника на тлі гіпертирозидизму: інтенсивне забарвлення цитоплазматичної зернистості основної маси лютеоцитів; ареактивність центральної частини жовтого тіла, на тлі якої помітна виражена лейкоцитарна інфільтрація.

Гіпотирозидизм супроводжувався посиленням реактивності фолікулярного епітелію, підвищен-

ням мозаїчності забарвлення жовтих тіл (відсутністю реакції у вогнищах деградації лютеоцитів),

лейкоцитарною інфільтрацією мозкової речовини яєчника (рис. 1Б). Корекція гіпотирозидизму тироксином забезпечувала нормалізацію кількості лейкоцитів, зникнення мозаїчності зафарбовування жовтих тіл (рис. 1В). Реактивність фолікулів залишалось на рівні гіпотирозидизму, майже

всі вони перебували в стані атрезії. При гіпертирозидизмі жовті тіла мали збільшений розмір, центральні частини багатьох з них характеризувалися зниженою реактивністю, на тлі якої була добре помітною лейкоцитарна інфільтрація (рис. 1Г).

Таблиця 1
Експресія сіалогліканів, залишків DGlcNAc, DGalNAc і DGal структурними компонентами ендометрія щура при гіпо- та гіпертирозидизмі, а також корекції гіпотирозидизму тироксином

Лектини, їх вуглеводна специфічність	Група тварин	Тканинні компоненти ендометрія					
		Епітелій поверхні	Залози		Колагенові волокна	Децидуальні клітини	Лейкоцити
Sambucus nigra agglutinin, SNA, NeuNAc(α 2-6)DGal *	контроль	+++	+++	+	++++	+	+++
	гіпотирозидизм	++++	++++	+	+++	-	++++
	корекція	+++	+++	+	+	-	+
	гіпертирозидизм	++++	++++	++	++++	+++	-
Wheat germ agglutinin, WGA, DGlcNAc > NeuNAc	контроль	+++	+++	+	+++	+	++
	гіпотирозидизм	++++	++++	++	-+	+	++++
	корекція	+++	++++	++	+	+	++
	гіпертирозидизм	++++	++	+	++++	++	++++
Ricinus communis agglutinin, RCA, β DGal > NeuNAc	контроль	++	++	-	++++	+++	++++
	гіпотирозидизм	+++	+++	-	-	++	+++++
	корекція	++	++	-	++	+	+
	гіпертирозидизм	++	+++	-	+++++	+++	++
Urtica dioica agglutinin, UDA, DGlcNAc	контроль	+++	+-	-	+++	+++	++++
	гіпотирозидизм	+-	++	-	+-	+++	++++
	корекція	++	+	-	+++	-	++++
	гіпертирозидизм	+++	+-	-	++++	++++	++++
Soybean agglutinin, SBA, α DGalNAc, β DGalNAc	контроль	+++	++	+	++	++	+++
	гіпотирозидизм	++++	++++	-	++	++	++++
	корекція	++++	++++	+	++	-	++++
	гіпертирозидизм	++++	++	+	++++	++	+++
Helix pomatia agglutinin, HPA, α DGalNAc	контроль	++	+++	+	++++	-	+++
	гіпотирозидизм	++++	+++	+	+++	-	++++
	корекція	++++	+++	+	++++	-	-
	гіпертирозидизм	++++	++++	++	++++	++	-
Peanut agglutinin, PNA, DGal	контроль	++	++	+	++	+	++
	гіпотирозидизм	+++	+++	++	++	+	++++
	корекція	+++	+++	++	++	+	++++
	гіпертирозидизм	++	++	++	+++	++	++

Серед структур ендометрія щурів контрольної групи лектин SNA виявляв підвищену спорідненість до глікокон'югатів апікальних частин поверхневого епітелію, люменальної поверхні та секрету маткових залоз (рис. 2А). Гіпотирозидизм супроводжувався розширенням просвіту та посиленням контурування маткових залоз, масивною лейкоцитарною інфільтрацією стромы (рис. 2Б). Застосування мерказолілу у поєднанні з ти-

роксином обумовлювало нормалізацію кількості лейкоцитів, реактивності поверхневого та залозистого епітелію з одночасним збільшенням зафарбовування стромальних компонентів ендометрія (рис. 2В). Характерними ознаками ендометрія при гіпертирозидизмі були колагенізація (гіпертрофія та посилення реактивності колагенових волокон), підвищена лейкоцитарна інфільтрація стромы; інтенсивність зв'язування лектину

SNA з епітеліоцитами поверхні ендометрія та маткових залоз відповідала контрольним показ-

никам (рис. 2Г).

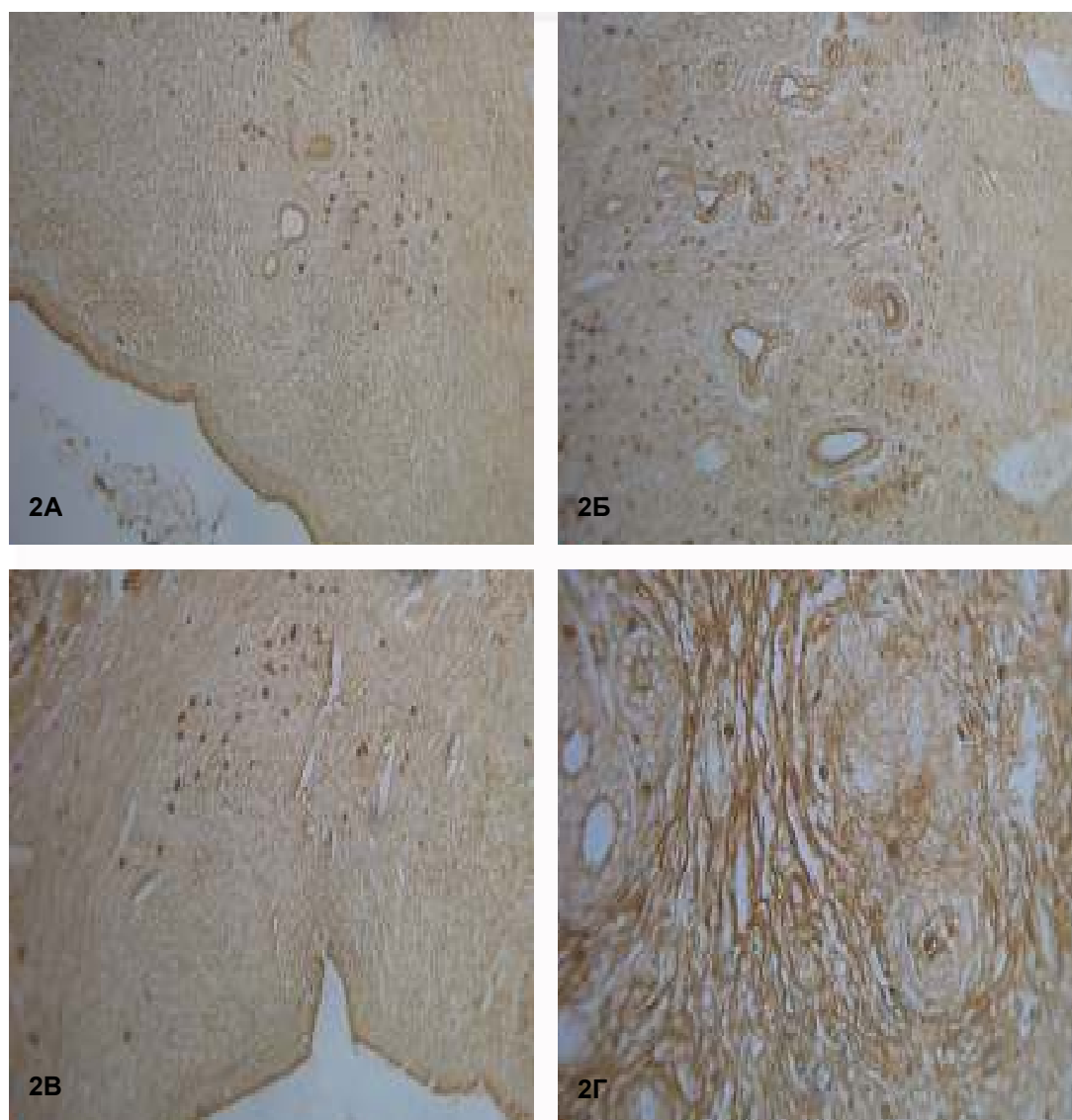


Рис. 2. Експресія сіалогліканів структурними компонентами ендометрія. Обробка лектином SNA. $\times 200$ (А, Б, В); $\times 400$ (Г). А. Ендометрій щура контрольної групи: реактивність люменальної поверхні епітеліального вистелення порожнини матки, секреторних відділів залоз ендометрія, навколо яких локалізована незначна кількість лейкоцитів. Б. Структура ендометрія на тлі гіпотирозидизму: розширення просвіту та посилене контурування маткових залоз, масивна лейкоцитарна інфільтрація. В. Застосування мерказолілу у поєднанні з тироксином (група корекції): нормалізація кількості лейкоцитів, реактивності поверхневого та залозистого епітелію у поєднанні з деяким підвищенням реактивності стромальних компонентів ендометрія. Г. Мікроморфологія ендометрія при гіпертироїдизмі: гіпертрофія та посилення реактивності колагенових волокон, посилена лейкоцитарна інфільтрація строми; реактивність епітеліального компоненту ендометрія в межах норми.

Лектин зародків пшениці (WGA) та рицини (RCA). Гістотопографія рецепторів означених лектинів, закономірності їх перерозподілу при дисбалансі тиреоїдних гормонів загалом нагадували описані вище для лектину SNA з певними кількісними відмінностями: інтенсивність гістохімічної реакції була найвищою з лектином WGA, і дещо слабшою – з лектинами SNA та RCA. Найімовірніше такий характер реакцій був обумовлений додатковою експресією залишків

DGlcNAc, до яких, помимо сіалових кислот, спрямована афінність лектину WGA.

Для перевірки цієї гіпотези було використано **лектин кропиви (UDA)**, специфічність взаємодії якого з тканинними глікополімерами визначають суто залишки DGlcNAc. Як видно з таблиць 1 і 2, виявлена цілковита відсутність кореляції між гістохімічною реактивністю лектинів WGA та UDA як стосовно контрольних тварин, так і змін, викликаних гіпо- чи гіпертиро-

Експресія сіалогліканів, залишків DGlcNAc, DGalNAc і DGal структурними компонентами яєчників щура при гіпо- та гіпертироїдизмі, а також корекції гіпотирозидизму тироксинам

Лектини, їх вуглеводна специфічність	Характер впливу	Структурні компоненти яєчника									
		Фолікули (ростучі)				Овоцит		Атретичні фолікули	Атретичні тіла	Жовті тіла	Лейкоцити
		Фолікулярні клітини	Фолікулярна рідина	Кумулюс	Цитоплазматична зернистість	Прозора зона	Променистий вінець				
SNA, NeuNAc(α2-6)DGal *	контроль	+++	+	++	++	++	++	+	-	+++	-
	гіпотирозидизм	++++	+++	+++	++++	++++	++++	+	-	++++	++
	корекція	++	++	++	++	++	++	+	-	+++	-
	гіпертирозидизм	+	+	+	+++	+++	+++	-	-	++++	-
WGA, DGlcNAc > NeuNAc	контроль	+++	+-	++	+++	+++	++	+	-	++++	-
	гіпотирозидизм	+++	+-	++	+++	+++	++	+	-	++++	+++
	корекція	+++	-	++	+++	+++	++	+	-	++++	-
	гіпертирозидизм	+++	+-	++	+++	+++	++	+	-	++++	-
RCA, βDGal > NeuNAc	контроль	+	-	+	++	++	++	+	-	+	-
	гіпотирозидизм	++	+	++	+++	+++	+++	-	-	++	+++
	корекція	++	+	++	++	++	++	+	-	++	-
	гіпертирозидизм	+	-	-	+++	+++	+++	-	-	+	-
UDA, DGlcNAc	контроль	++	+++	++	+++	++++	++++	-	-	+-	-
	гіпотирозидизм	++	+++	++	+++	++++	++++	-	-	+-	+++
	корекція	++	+++	++	+++	++++	++++	+	-	++	+
	гіпертирозидизм	+	++	+	++	++	++	+	-	+++	+
SBA, αDGalNAc, βDGalNAc	контроль	++	+-	+++	++	++	+	+	-	+++	-
	гіпотирозидизм	+++	+	+++	+++	+++	+++	+	-	+++	+++
	корекція	+++	+	+++	+++	+++	+++	+	-	+++	++
	гіпертирозидизм	+	+-	+	+	+	+	+	-	+++	-
HPA, αDGalNAc	контроль	++	+	++	++	++	++	+	-	+++	-
	гіпотирозидизм	+++	+	+++	+++	+++	+++	+	-	+++	-
	корекція	+++	+	+++	+++	+++	+++	+	-	+++	-
	гіпертирозидизм	+	+	+	+++	+++	+++	+	-	+++	-
PNA, DGal	контроль	++	+	++	++	++	++	+	-	+++	
	гіпотирозидизм	+++	+	+++	+++	+++	+++	+	-	+++	
	корекція	+++	+	+++	+++	+++	+++	+	-	+++	
	гіпертирозидизм	+	+	+	+++	+++	+++	+	-	+++	

Характерно, що реактивність майже всіх структурних компонентів яєчників та ендометрія з лектином кропиви на тлі гіпотирозидизму редукувалася, у той час як вищезначений патологічний стан зумовлював підвищення експресії рецепторів лектину зародків пшениці. Відсутність кореляції між закономірностями перерозподілу рецепторів лектинів UDA та WGA, у поєднанні з певною подібністю перерозподілу рецепторів останнього та лектину SNA, може свідчити про домінуючу роль сіалованих вуглеводних детермінант у забезпеченні гістохімічної реактивності структур яєчників та ендометрія.

Лектин сої (SBA). У яєчниках щурів контрольної групи експресія рецепторів лектину SBA виявлена в цитоплазмі лютеоцитів і, меншою мірою, в цитоплазмі овоцитів та фолікулярних клітин, ядра яких залишалися ареактивними.

Водночас інтенсивну реактивність з лектином сої демонстрували клітини променистої корони ростучих фолікулів без порожнини або з невеликою порожниною, відрізняючись цим від решти слабореактивних фолікулярних клітин (рис. 3А). Високою афінністю до лектину сої характеризувались також цитоплазматична зернистість та прозора зона овоцитів. У зрілих фолікулах з великою порожниною і тонкою стінкою реактивність клітин променистої корони з лектином сої була редукована.

Гістотопографія рецепторів лектину сої в структурах яєчників гіпотирозидних щурів була подібною до контролю, за винятком того, що в деяких ростучих фолікулах значна кількість SBA-реактивних глікокон'югатів спостерігалася не лише в клітинах променистої корони, але також у найближчих до овоцита двох-трьох шарів

клітин гранульози (рис. 3В). Значна кількість фолікулів в яєчниках тварин цієї групи була в стані атрезії, початкові стадії якої були добре помітні на препаратах, зафарбованих лектином SBA, у зв'язку з його інтенсивним зв'язуванням із залишками прозорої зони і фолікулоцитами, що оточували загиблий овоцит. Сформовані ат-

ретичні тіла були SBA-ареактивними. Характерною рисою яєчників тварин гіпотиреоїдної групи була присутність великої кількості інтенсивно зафарбованих лейкоцитів, розсіяних по усій тканині яєчника, з переважною локалізацією у стромі мозкової речовини.

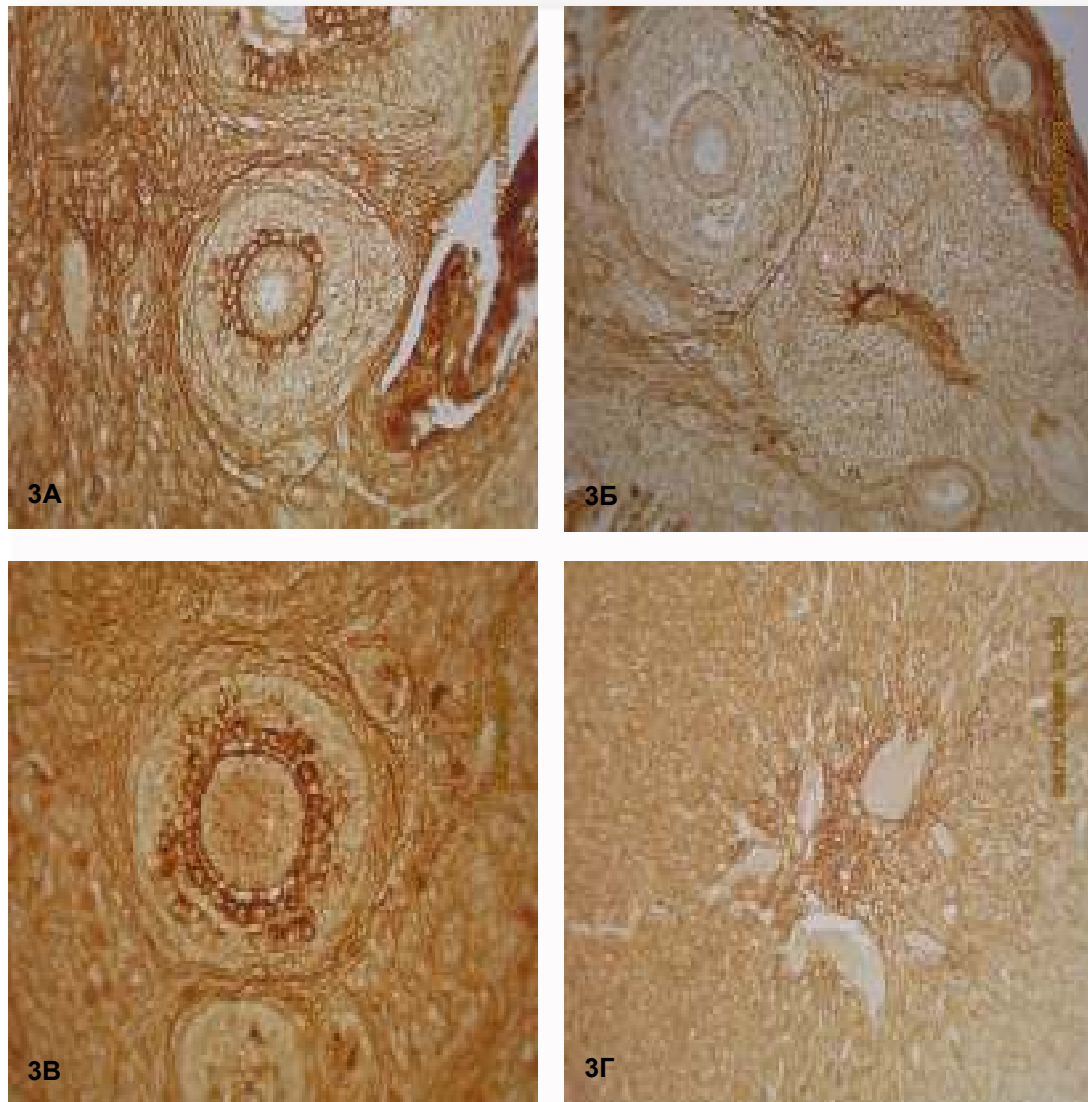


Рис. 3. Експресія вуглеводних детермінант DGalNAc структурами яєчника. Обробка лектином SBA. $\times 400$ (А, Б, В); $\times 200$ (Г). А. Ростучий фолікул яєчника щура контрольної групи: підвищена реактивність цитоплазматичних глікокон'югатів клітин променистої корони, зернистості та прозорої зони овоцита. Обробка лектином SBA. Б. Ростучий фолікул і жовте тіло яєчника щура контрольної групи після обробки лектином НРА: у порівнянні з рис. 3А значно слабше виражена реактивність клітин променистої корони та прозорої зони овоцита, лютеоцитів жовтого тіла, за виключенням його центральної зони. В. Ростучий фолікул яєчника гіпотиреоїдного щура: підвищена у порівнянні з контролем (рис. 3А) реактивність клітин гранульози. Обробка лектином SBA. Г. Жовте тіло яєчника на тлі гіпертироїдизму: підвищена у порівнянні з основною масою лютеоцитів реактивність центральної частини жовтого тіла.

У гіпертироїдних самок, на відміну від контролю, підвищену реактивність з лектином сої у складі ростучих фолікулів давали не лише фолікулоцити променистої корони, але також і фолікулярні клітини, що оточували порожнину фолікула. Окрім того, підвищена експресія рецепто-

рів лектину SBA була характерною для центральних частин, так званих "свіжих" жовтих тіл, навколо іще наявної у їх складі порожнини (рис. 3Г).

У складі ендометрія інтактних тварин інтенсивну експресію рецепторів лектину сої задоку-

ментовано в апікальній частині клітин поверхневого епітелію та маткових залоз, у складі секрету частини залоз, цитоплазмних глікополімерів децидуальних клітин, колагенових волокон і лейкоцитів. Останні незначно вирізнялися на тлі інтенсивно зафарбованої строми. Зазначимо, що лейкоцити виявились тим різновидом клітин, у складі яких, на відміну від усіх інших клітинних популяцій, деякі лектини (серед них SBA, HPA) зв'язувалися з ядерними, а не лише цитоплазматичними глікокон'югатами.

Гістотопографія рецепторів лектину сої та їх кількість в структурах ендометрія гіпотиреоїдних щурів не відрізнялась від контролю. Водночас у групі гіпертироїдних тварин інтенсивність реакції усіх описаних структур була більшою, особливо це стосувалось лейкоцитів, а також потовщених колагенових волокон, пучки яких були добре помітними переважно в периферійних ділянках ендометрія, на межі з міометрієм.

Лектин виноградної слимака (HPA). При використанні лектину HPA реакція усіх структур яєчника та ендометрія виявилася значно слабшою, ніж із лектином сої (рис. 3Б). Лектин HPA демонстрував також меншу, у порівнянні з лектином SBA, селективність зв'язування з тканинними структурами, незважаючи на близьку вуглеводну специфічність обох лектинів, афінність яких спрямована до залишків DGalNAc.

У складі ендометрія контрольної групи щурів слабо зафарбовані лейкоцити були слабо помітними на світлому тлі строми (рис. 4А). У гіпотиреоїдних тварин реакція з лектином HPA усіх структур ендометрія, крім лейкоцитів, була редукованою; останні ж, інтенсивно зафарбовані, у великій кількості інфільтрували ендометрій (рис. 4Б, В). Вигляд ендометрія гіпертироїдних щурів після обробки лектином HPA практично не відрізнявся від контролю, за винятком інтенсивніше зафарбованих лейкоцитів.

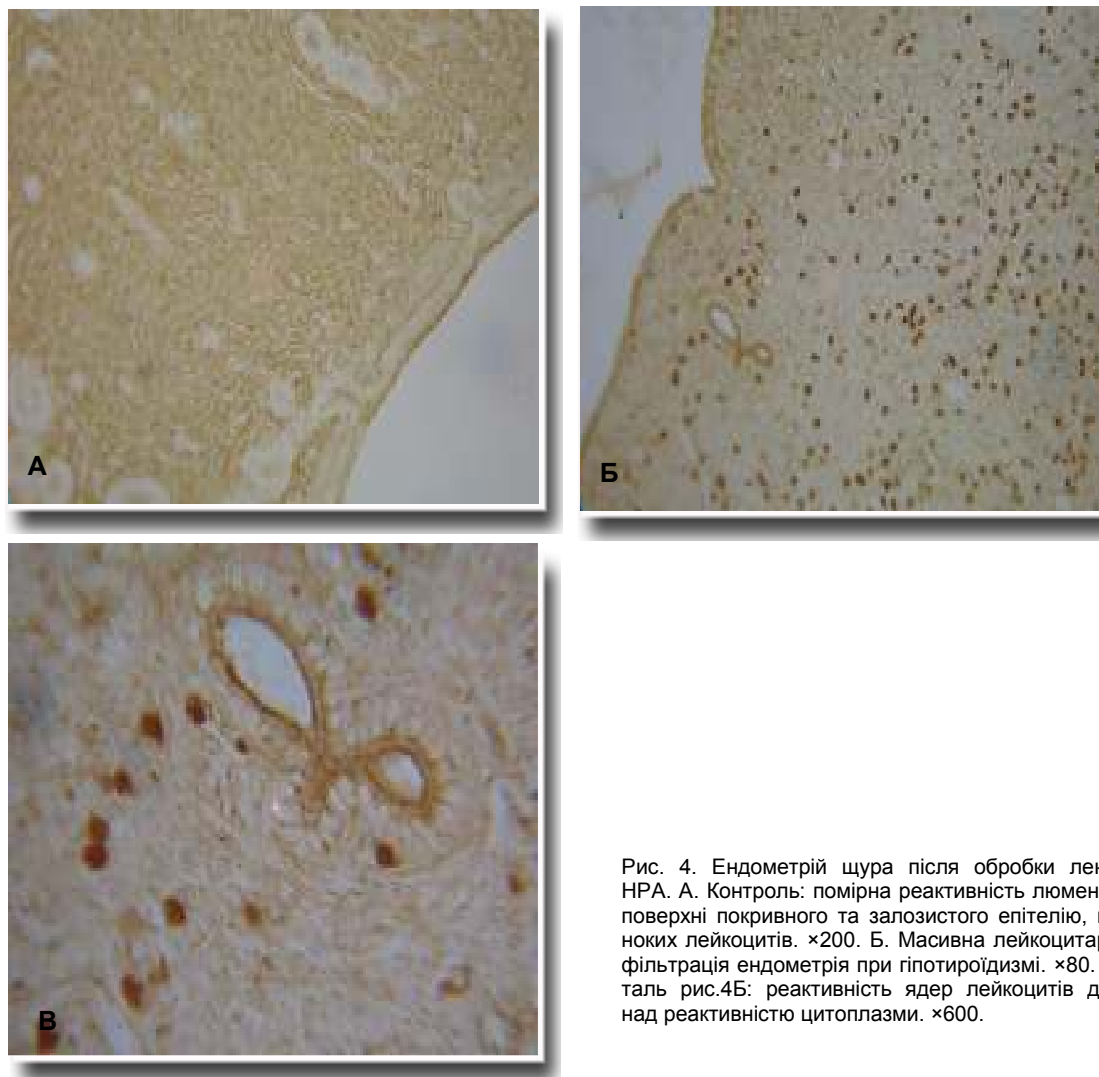


Рис. 4. Ендометрій щура після обробки лектином HPA. А. Контроль: помірна реактивність люменальної поверхні покривного та залозистого епітелію, поодинокі лейкоцити. $\times 200$. Б. Масивна лейкоцитарна інфільтрація ендометрія при гіпотиреоїдизмі. $\times 80$. В. Деталь рис.4Б: реактивність ядер лейкоцитів домінує над реактивністю цитоплазми. $\times 600$.

Таким чином, лектини сої та виноградного слимака у нашому дослідженні характеризувалися близькою, але не ідентичною гістохімічною специфічністю. Очевидно, означений феномен обумовлений домінуванням у структурних компонентах яєчника та ендометрія шкура вуглеводних детермінант β DGalNAc, і низьким вмістом залишків α DGalNAc, до яких вибіркового спрямована афінність лектину HPA.

Лектин *арахісу* (PNA). Гістотопографія рецепторів лектину PNA у структурах яєчника та матки загалом була аналогічною вищеописаній для лектину сої, з дещо слабшою інтенсивністю реакції. Як видно з таблиць 1 і 2, гіпо- та гіпертироїдизм супроводжувалися підвищенням експресії D-галактогліканів переважно більшістю структурних компонентів яєчників та ендометрія.

Описаний вище характер зв'язування лектинів використаного нами набору з мікроструктурами яєчників і матки підтвердив дані літератури (Wu T.C. et al., 1984; Lee M.C., Damjanov I., 1985; Волкова О.В. и соавт., 1987; Aviles M. et al., 1997; Parillo F. et al., 2003; Чайковський Ю.Б., Копійка І.В., 2006) стосовно високого вмісту та різноманіття і, відповідно, важливої фізіологічної ролі притаманних цим органам глікополімерів. Аналіз результатів перерозподілу рецепторів лектинів на тлі гіпо- та гіпертироїдизму продемонстрував, що гіпертироїдизм супроводжується більш вираженим впливом на вуглеводні детермінанти структур яєчника у порівнянні з гіпотиреоїдним станом. Останній характеризувався інфільтрацією мозкової речовини яєчника лейкоцитами, найбільш селективним гістохімічним маркером яких виявилися лектини PNA, SBA та UDA.

У складі структурних компонентів ендометрія шкурів із експериментальним гіпотиреоїдизмом у порівнянні з контролем було виявлено посилення експресії вуглеводних детермінант з термінальними залишками DGal та DGalNAc. Для групи гіпотиреоїдних тварин характерною була також інтенсивна реакція лейкоцитів з переважною більшістю лектинів навіть за умов одночасного зниження реактивності усіх інших структур (зокрема, з лектинами WGA та HPA). При цьому, як в умовах гіпо-, так і гіпертироїдизму, кількість лейкоцитів у складі ендометрія значно перевищувала контрольні показники. Отримані нами дані стосовно маркування лейкоцитів лектинами узгоджуються з описаною в літературі підвищеною експресією різними видами лейкоцитів термінальних залишків DGal, DGalNAc та DGlcNAc (Луцик А.Д. и соавт., 1987, 1989; Lee M.C. et al., 1987).

Лектини SNA та SBA виявилися селективними маркерами видозмінених на тлі гіпертироїдизму колагенових волокон ендометрія, кількість

яких при цій патології у порівнянні з контролем була значно підвищеною. Правдоподібно, причиною виявленого нами феномена колагенізації ендометрія може бути індуковане гіпертироїдизмом порушення процесів фізіологічної деградації колагену. Отримані нами дані узгоджуються з результатами S.Saha та співавторів (2007) стосовно порушень біосинтезу колагену і його посилену деградацію в яєчниках шурів за умов гіпотиреоїдизму.

Отримані нами результати лектиногістохімічних досліджень мікроструктур ендометрія при корекції гіпотиреоїдизму замісними дозами тироксину добре корелювали із загальноморфологічними даними: масивна лейкоцитарна інфільтрація строми ендометрія поверталась до контрольних показників при застосуванні 30 мкг/кг тироксину. Нормалізувалася також експресія рецепторів лектинів SNA, WGA, RCA, UDA як колагеновими волокнами, так і люменальними та залозистими епітеліоцитами. Разом із тим, використання лектинів PNA, SBA та HPA продемонструвало недостатність коригуючого впливу тироксину при експериментальному гіпотиреоїдизмі, оскільки нормалізації експресії детермінант DGal та DGalNAc, на відміну від сіалогліканів, протягом часу проведення експерименту досягти не вдалося.

У попередніх дослідженнях (Луцик А.Д. и соавт., 1987) було продемонстровано розбалансованість процесів кінцевого глікозилювання біополімерів слинних залоз під впливом експериментального гіпо- та гіпертироїдизму, причому для обох патологічних станів була характерною незавершеність синтезу олігосахаридних ланцюгів, що проявлялося редукцією сіалогліканів у поєднанні з посиленням експресії детермінант DGal та DGalNAc. Виявлені нами у цьому дослідженні закономірності можуть свідчити про те, що зміни олігосахаридних ланцюгів в органах жіночої репродуктивної системи під впливом дисбалансу тиреоїдних гормонів носять складний і різноспрямований характер. Серед імовірних причин виявленого нами накопичення сіалогліканів, а також глікополімерів з детермінантами DGal, DGalNAc та DGlcNAc можуть бути як сповільнення секреції, так і пригнічення їх фізіологічної деградації на тлі тиреоїдної патології.

Загальноморфологічні та лектиногістохімічні зміни ендометрія при дисбалансі тиреоїдних гормонів були виражені сильніше, ніж відповідь на моделювання цих патологічних станів структурами яєчників. Це проявлялося, зокрема, у посиленій лейкоцитарній інфільтрації та підвищеній колагенізації ендометрія. Вірогідно, причина криється як у впливі складних гормональних взаємозв'язків у системі гіпоталамус-гіпофіз-гонади, наявності власної ендокринної активності яєчників, так і їх більшій захищеності від

впливу екзогенних чинників.

Висновки

1. Як гіпо-, так і гіпертироїдизм мають суттєвий вплив на глікополімери яєчників та матки, що в умовах експерименту проявлялося у різноспрямованій і суто специфічній для кожної вивченої мікроструктури зміні сіалогліканів, а також вуглеводних детермінант DGal, DGalNAc та DGlcNAc.

2. Порівняння двох модельованих патологічних станів показало, що гіпертироїдизм чинить більш виражений вплив на органи жіночої репродуктивної системи. При порівнянні яєчників та ендометрія встановлено, що останній має вищу чутливість до дисбалансу тиреоїдних гормонів, свідченням чого служили, зокрема, масивна лейкоцитарна інфільтрація та колагенізація строми.

3. Корекція гіпотирозидизму тироксином сприяла певній нормалізації як загальноморфологічних (лейкоцити, колагенові волокна), так і

гістохімічних (сіалоглікани) характеристик, однак нормалізації рецепторів лектинів SBA, HPA та PNA за час проведення експерименту досягнуто не було.

4. Як в нормі, так і при модельованих патологічних станах окремі лектини виявилися селективними гістохімічними маркерами структурних компонентів яєчника та ендометрія: лектин SBA – прозорої зони та променистої корони овоцитів ростучих фолікулів, лютеоцитів жовтих тіл; лектин WGA – гіалінізованої прозорої зони атретичних фолікулів; лектини WGA, PNA, UDA та HPA – лейкоцитів; лектини SNA та SBA – колагенових волокон ендометрія.

Перспективи подальших розробок пов'язані з вивченням експресії кінцевих залишків сілової кислоти та десілювання вуглеводних детермінант тканинних структур яєчників та ендометрія щура в різних експериментальних умовах.

Літературні джерела

Абусуев С. А. Особенности перименопаузы при эндемическом зобе у женщин с гипотиреозом / С. А. Абусуев, А. Э. Эседова, Т. Х. Хашаева // Проблемы эндокринологии. - 2000. - № 1. - С.12-16.

Амбарова Н. О. Перебудова сіалогліканів нирки щура у постнатальному морфогенезі та при стрептозототин-індукованій діабетичній нефропатії / Н. О. Амбарова // Морфологія. - 2009. - Т. 3, № 3. - С. 21-31.

Антонюк В. О. Лектини та їх сировинні джерела / В. О. Антонюк. - Львів : Кварт, 2005. - 554 с.

Волошин Н.А. Роль лектинов в диагностике и лечении злокачественных новообразований / Н. А. Волошин, С. Н. Пашенко // Запорожский медицинский журнал. - 2004. - № 3. - С. 93-96.

Луцик А. Д. Лектины в гистохимии / А. Д. Луцик, Е. С. Детюк, М. Д. Луцик. - Львов : Вища школа, 1989. - 140 с.

Луцик А. Д. Связывание лектинов структурами поднижнечелюстной слюнной железы крыс в постнатальном онтогенезе при тиреоидной патологии / А. Д. Луцик, А. М. Яценко, Е. С. Детюк // Архив анатомии, гистологии и эмбриологии. - 1987. - Т. 92, № 2. - С. 40-48.

Луцик М. Д. Лектины / М. Д. Луцик, Е. Н. Панасюк, А. Д. Луцик. - Львов : Вища школа, 1980. - 156 с.

Муравлева О. В. Распространенность патологии щитовидной железы в Полтавской области в постчернобыльский период и пути ее профилактики / О. В. Муравлева, Н. Н. Рябушко, Л. Е. Бобырева // Одесский медицинский журнал. - 2004. -

№ 5. - С. 96-98.

Паньків В. І. Оцінка тяжкості йодної недостатності у Карпатському регіоні / В. І. Паньків, В. А. Маслянюк, Н. В. Пашковська // Буковинський медичний вісник. - 2005. - Т. 5, № 1. - С. 7-10.

Пашенко С. Н. Определение экспрессии рецепторов лектинов для прогнозирования эффективности лимфаденэктомии у больных карциномой молочной железы T1-2NOMO / С. Н. Пашенко, И. Д. Паламарчук, Н. А. Волошин // Онкология. - 2005. - № 3. - С. 205-208.

Татарчук Т. Ф. Эндокринная гинекология / Т. Ф. Татарчук, Я. П. Сольский. - Київ : Заповіт, 2003. - 147 с.

Углеводные детерминанты органов репродуктивной системы мыши по данным использования лектинов различной углеводной специфичности / О. В. Волкова, А. Д. Луцик, Е. С. Детюк, Е. В. Рухадзе // Архив анатомии, гистологии и эмбриологии. - 1987. - № 1. - С. 62-69.

Хомутовский О. А. Электронная гистохимия рецепторов клеточных мембран / О. А. Хомутовский, М. Д. Луцик, О. Ф. Передерей. - Киев : Наукова думка, 1986. - 244 с.

Чайковский Ю. Б. Порівняльний лектиногістохімічний аналіз ендометрія в нормі, при гіперплазії та аденокарциномах / Ю. Б. Чайковский, І. В. Копійка // Вісник проблем біології і медицини. - 2006. - № 2. - С. 334-337.

Шаповалова Е. Ю. Изменение углеводного состава тканей в процессе раннего эмбрионального гистогенеза поджелудочной железы у человека / Е. Ю. Шаповалова, А. Д. Луцик // Тавриче-

ский медико-биологический вестник. -2000. - Т. 4, № 3-4. - С. 169-173.

Шелестова Л. П. Субклінічний гіпотиреоз у юних вагітних жінок / Л. П. Шелестова // Ендокринологія. - 2004. - Т. 9, № 1. - С. 53-59.

Abe Y. Thyroid disease and reproduction dysfunction / Y. Abe, N. Momotani // Nippon Rinsho. - 1997. - Vol. 55, № 11. - P. 2974-2978.

Lectin binding sites on the mouse ovary, intraovarian and ovulated ova / T. C. Wu, M. C. Lee, J. J. Wan, I. Damjanov // Histochemistry. - 1984. - Vol. 80, № 6. - P. 527-533.

Lee M. C. Lectins as markers for eosinophilic leukocytes / M. C. Lee, D. Turcinov, I. Damjanov // Histochemistry. - 1987. - Vol. 86. - P. 269-273.

Lee M. C. Pregnancy-related changes in the human endometrium revealed by lectin histochemistry / M. C. Lee, I. Damjanov // Histochemistry. - 1985. - Vol. 82, № 3. - P. 275-280.

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.

Modifications of carbohydrate residues and ZP2 and ZP3 glycoproteins in the mouse zona pellu-

cida after fertilization / M. Aviles, L. Jaber, M. T. Castells, J. Ballesta // Biol. Reprod. - 1997. - Vol. 57. - P. 1155-1163.

Nicolson G. L. Difference in topology of normal and tumor cell membranes shown by different surface distribution of ferritin-conjugated concanavalin A / G. L. Nicolson // Nature (New Biol.). - 1971. - Vol. 233. - P. 244-246.

Parillo F. Immunogold study on lectin binding in the porcine zona pellucida and granulosa cells / F. Parillo, C. Dall'Aglia, A. Verini-Supplizi // Eur. J. Histochem. -2003. - № 4. - P. 353-358.

Procollagen synthesis is increased in hypothyroid rat ovary by a parallel and compensatory pathways / S. K. Saha, P. Ghosh, S. Bhattacharya, S. S. Roy // Cell. Physiol. Biochem. - 2007. - Vol. 19, № 5-6. - P. 313-322.

Roth J. The lectins: molecular probes in cell biology and membrane research / J. Roth // Exp. Path. - 1978. - Vol. 3. - P. 253.

Scocco P. Equine mandibular gland: in situ characterisation of sialoderivatives / P. Scocco, V. Pedini // Equine Vet. J. - 2006. - Vol. 38, № 5. - P. 410-415.

Согомонян Е.А. Влияние экспериментального гипо- и гипертироидизма на экспрессию сиалогликанов структурными компонентами яичников и эндометрия крысы.

Резюме. С использованием 7 лектинов различной углеводной специфичности (SNA, WGA, RCA, UDA, SBA, HPA и PNA) проведено гистохимическое исследование экспрессии сиалогликанов и сочетанных с ними углеводных детерминант структурными компонентами яичников и эндометрия крысы в норме, а также под влиянием экспериментального гипо- и гипертироидизма. Материал фиксировали в 4% нейтральном формалине и заключали в парафин. Были использованы лектин-пероксидазные конъюгаты, визуализацию осуществляли диаминобензидином. Установили, что как гипо-, так и гипертироидизм оказывают существенное влияние на гликополимеры яичников и матки, что в условиях эксперимента проявлялось в разнонаправленном и специфичном для каждой изученной микроструктуры изменении сиалогликанов, а также углеводных детерминант DGlcNAc, DGalNAc и DGal. Сравнение двух моделированных патологических состояний показало, что гипертироидизм оказывает более значительное влияние на органы женской репродуктивной системы. При сравнении яичников и эндометрия было установлено, что последний более подвержен повреждающему воздействию дисбаланса тироидных гормонов, о чем свидетельствовала массивная лейкоцитарная инфильтрация и коллагенизация стромы эндометрия. Коррекция гипотирозидизма тироксином стимулировала определенную нормализацию как общеморфологических показателей (лейкоциты, коллагеновые волокна), так и некоторых гистохимических характеристик (сиалогликанов), однако нормализации содержания рецепторов лектинов SBA, HPA и PNA за время проведения эксперимента достигнуто не было. Как в условиях контроля, так и при моделированных патологических состояниях лектины продемонстрировали способность к селективному маркированию отдельных микроструктур яичников и эндометрия, что может быть использовано в дальнейших исследованиях.

Ключевые слова: лектиновая гистохимия, яичник и эндометрий крысы, гипо- и гипертироидизм.