

Струс Х.І.
Панкевич Л.В.
Челпанова І.В.
Юзич О.В.
Ященко А.М.
Луцик О.Д.

Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького,
Львів, Україна







Надійшла: 22.09.2020

Прийнята: 18.10.2020

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2020.3.85-91>

УДК 611.24:611-018:547.96]-08:616.441-008.61-091.8-092.9

МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНІ ОСОБЛИВОСТІ ТА СІАЛОГЛІКАНИ ЛЕГЕНЬ ПОТОМСТВА САМОК ЩУРІВ З ГІПЕРФУНКЦІЄЮ ЩИТОПОДІБНОЇ ЗАЛОЗИ

Strus Kh.I. , Pankevych L.V. , Chelpanova I.V. , Yuzich O.V. , Yashchenko A.M.  ✉, Lutsyk A.D. 
Morphofunctional peculiarities and sialoglycans in lungs from offspring born from female rats with thyroid gland hyperfunction.

Danylo Halytskyi Lviv National Medical University, Lviv, Ukraine.

ABSTRACT. Background. Over the last decade, there has been a global pending to increase the incidence of chronic obstructive pulmonary disease by 25% in men and 69% in women. **Objective.** To study the role of sialoglycans according to wheat germ lectin receptors (WGA) and morphofunctional features of offspring rats, which developed in conditions of hyperfunction of the thyroid gland of the maternal organism. **Methods.** The experimental study was performed on the offsprings of 20 females (10 control, 10 experimental) rats of the Wistar line. For 20 days before coupling the females of the experimental group received the drug L-thyroxine (Berlin-Chemie) at a dose of 150 µg / kg body weight. After euthanasia by overdose of ether anesthesia, the offspring from control and experimental females were taken lungs on the 1st, 10th, 20th and 40th day of postnatal development. Histological material was fixed in 4% neutral formalin, compacted and poured into paraffin blocks, made sections 5-7 µm thick. Review preparations were stained with hematoxylin and eosin according to standard methods. Wheat germ lectin WGA (*Triticum vulgare*) labeled with peroxidase-specific DGlcNAc NeuNAc was used to detect sialoglycans. **Results.** On the 1-40th day of postnatal development, the lungs of rats of the intact group show up typical morphology characteristic of rat lungs. On the tenth day of postnatal development in the offsprings lungs from females receiving L-thyroxine visually increases the number of alveoli, indicating an intensification of morphogenesis of lung tissue. Lectinohistochemical studies showed that on the first day of postnatal development in the lungs of rats of the intact group, receptors for sialospecific lectin WGA were identified on the surface of ciliated cells of the bronchial tree and vascular endothelium, while in the experimental group receptors for this lectin were found significantly in alveolar macrophages, visualised more often than in the lungs of the offspring from rats of the control group. Whereas on the 20th-40th day of postnatal development the number of macrophages with the presence of sialoglycans decreased. **Conclusion.** Studies have shown that in the lungs of offsprings from females receiving L-thyroxine, there are processes of intensification of the structural components of the lungs and the appearance of alveolar macrophages with the presence of sialospecific lectin WGA receptors, the number of which decreases during postnatal ontogenesis, that indicating a decrease of the immunity.


Key words: lungs, rats, thyroid gland, L-thyroxine, lectinohistochemistry.



Citation:

Strus KhI, Pankevych LV, Chelpanova IV, Yuzich OV, Yashchenko AM, Lutsyk AD. [Morphofunctional peculiarities and sialoglycans in lungs from offspring born from female rats with thyroid gland hyperfunction]. *Morphologia*. 2020;14(3):85-91. Ukrainian.

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2020.3.85-91>

 Strus Kh.I. 0000-0001-5161-9899;  Pankevych L.V. 0000-0001-8687-7628;

 Chelpanova I.V. 0000-0001-5215-814X;  Yuzich O.V. 0000-0002-0816-8268;

 Yashchenko A.M. 0000-0002-8422-5834;  Lutsyk A.D. 0000-0001-6819-804X

✉ yashchenko_am@ukr.net

© SI «Dnipropetrovsk Medical Academy of the Ministry of Health of Ukraine», «Morphologia»

Вступ

Основна функція щитоподібної залози (ЩЗ) – забезпечення організму достатньою кількістю тироїдних гормонів, необхідних для нормального функціонування практично всіх органів і систем організму. Вони регулюють процеси дозрівання і мають надзвичайно велике значення для розвитку головного мозку плода, формування інтелекту дитини, росту і дозрівання скелета та статеві системи [6, 8].

За останнє десятиліття відзначено світову тенденцію до збільшення захворюваності на хронічне обструктивне захворювання легень (ХОЗЛ) на 25 % у чоловіків і 69 % у жінок. Смертність при ХОЗЛ в 3,2 рази вища, ніж при пневмонії і становить 1,1 % і 1,18 % відповідно [3]. Аналіз літературних джерел свідчить про неухильне зростання саме у старших вікових групах не тільки бронхолегеневої патології, а й частоти дисфункції ЩЗ. ХОЗЛ супроводжується прогресуючим і практично незворотним зниженням функції зовнішнього дихання, що призводить до гіпоксемії та гіпоксії життєво важливих органів і систем. Захворювання приймає характер коморбідної патології з явищами поліорганної недостатності [2]. Поряд із тим, кількість наукових публікацій про вплив гормонів ЩЗ на морфофункціональні особливості органів дихальної системи, в тому числі і легень, обмежена [12].

В останній час лектин-вуглеводні взаємодії стали об'єктом інтенсивного дослідження та широкого впровадження в різних галузях біологічних і медичних досліджень. Виявлено значну кількість глікопротеїнів, які є біомаркерами багатьох захворювань, особливо при легеневій патології [1, 4, 10, 11].

Мета - дослідити цитопографію рецепторів лектину WGA та морфофункціональні особливості легень потомства щурів, що розвивалося за умов гіперфункції щитоподібної залози материнського організму.

Матеріал і методи

Експериментальне дослідження проведене на потомстві 20 самок (10 контрольних, 10 дослідних) щурів лінії «Вістар». Впродовж 20 діб до покриття самки дослідної групи отримували препарат L-тироксин (Берлін-Хемі) у дозі 150 мкг/кг маси тіла. Після евтаназії, шляхом передозування ефірного наркозу, в потомства контрольних і дослідних самок забирали легені на 1, 10, 20 та 40-у добу постнатального розвитку. Контроль функції щитоподібної залози здійснювали шляхом вивчення її морфології та рівня гормонів T_3 , T_4 котрі визначали імунохімічним методом у лабораторії Львівської обласної клінічної лікарні.

Під час роботи з тваринами керувались положеннями згідно з національними «Загальними етичними принципами експериментів на твари-

нах» (Україна, 2001), узгоджених з вимогами «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються в експериментальних та інших наукових цілях» (Страсбург, 1986), Законом України № 3447– IV від 21.02.2006 «Про захист тварин від жорстокого поводження» Гельсінською декларацією про гуманне відношення до тварин.

Гістологічний матеріал фіксували в 4 % нейтральному формаліні, ущільнювали та заливали в парафінові блоки, виготовляли зрізи товщиною 5-7 мкм. Оглядові препарати фарбували гематоксиліном та еозином за стандартною методикою.

Для виявлення сіалогліканів використовували лектин зародків пшениці WGA (*Triticum vulgare*) специфічний до DGlcNAc NeuNAc. Для візуалізації місць зв'язування лектину на зрізи наносили розчин хромогену, який містив 0,05 % 3,3' – діамінобензидину тетрагідрохлориду і 0,015 % H_2O_2 у ЗФР.

Мікроскопію і фотографування препаратів проводили з використанням мікроскопа "Swift Instruments International", доукомплектованого цифровою фотокамерою "Echo-Imager 502 000" із допомогою комп'ютерної програми "TopView 3.2".

Результати та їх обговорення

На першу добу постнатального розвитку у легнях щурів інтактної групи ідентифікуються компоненти бронхіального дерева. Стінка альвеол досить товста, добре видно термінальні та альвеолярні бронхіоли. Наші дослідження на даному етапі розвитку легень співпадають з результатами досліджень [7]. Між альвеолами присутні ділянки сполучної тканини (рис. 1А). У легнях потомства від самок, що отримували L-тироксин (у дозі 150 мкг/кг маси тіла) на першу добу постнатального розвитку, задокументували добре виражене бронхіальне дерево. Так, у бронхах середнього калібру добре візуалізується слизова, фіброзно-хрящова та адвентиційна оболонки. Просвіти структур бронхіального дерева розширені (рис. 1Б,В,Г). Епітелій слизової псевдобагатошаровий з присутністю війчастих, келихоподібних та мікрворсинчастих клітин. Фіброзно-хрящова оболонка утворена острівцями гіалінового хряща (рис. 1Г). Термінальні бронхіоли утворені кубічним епітелієм, біля останніх присутні судини в оточенні сполучної тканини, стінки альвеол тонші, а їх просвіти ширші, ніж у легнях потомства щурів інтактної групи (рис. 1Б,В).

На десятю добу постнатального розвитку у легнях інтактних щурів спостерігається менш щільна організація сполучної тканини, присутні бронхи різного калібру з характерною будовою, ідентифікується слизова, фіброзно-хрящова та адвентиційна оболонки (рис. 2А).

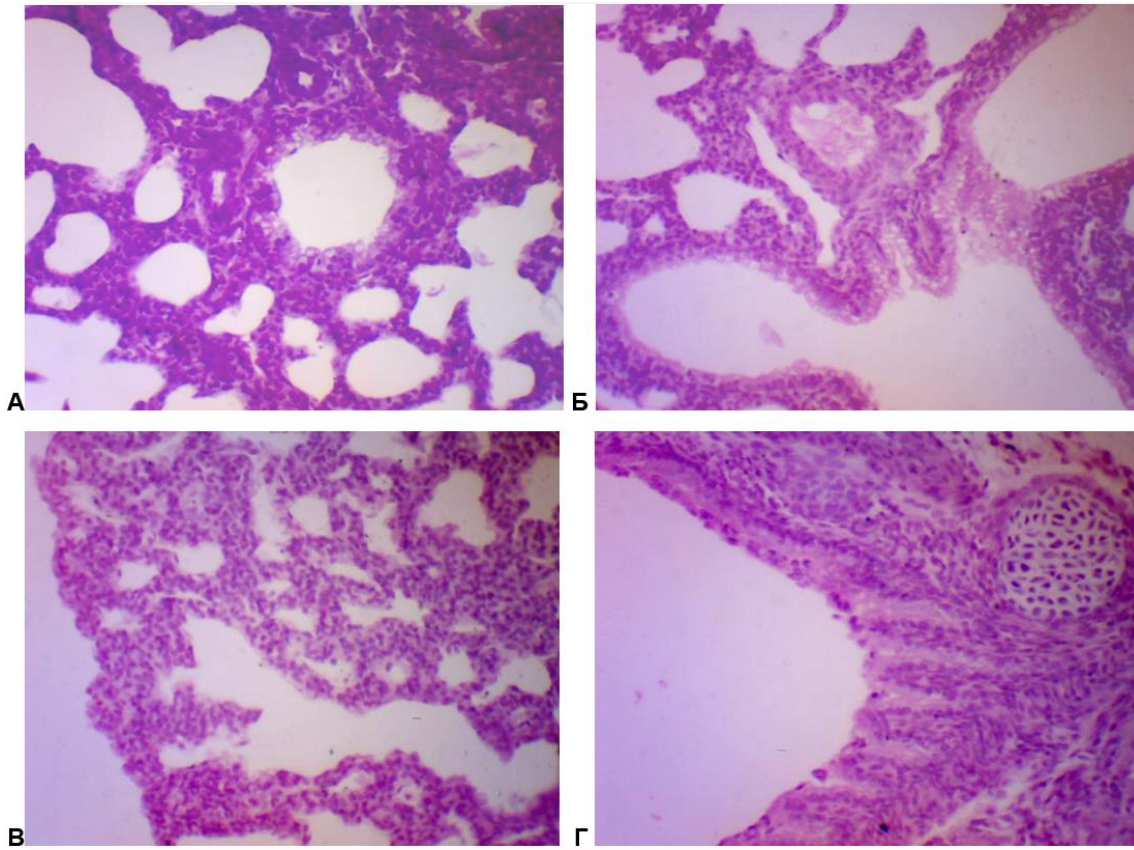


Рис. 1. Морфологічні особливості легень потомства щурів контрольної та дослідної груп на 1 добу постнатального онтогенезу. А-контроль. Б,В,Г- дослід. Розширення просвіту компонентів бронхіального дерева. Забарвлення гематоксилином та еозином. $\times 150$.

У слизовій оболонці присутня епітеліальна, власна та м'язова пластинка, а також наявні залози. Епітелій високо призматичний, з присутністю війчастих та келихоподібних клітин. В малих бронхах відсутня фіброзно-хрящова оболонка і залози, проте чітко виражена м'язова пластинка слизової оболонки, епітелій у малих бронхах дворядний, ідентифікуються війчасті та мікроборсинчасті клітини з оксифільною цитоплазмою. Навколо бронхів у сполучнотканинних перегородках розташовуються судини (рис.2 А). На даному етапі розвитку стінка альвеол виглядає дещо тоншою, ніж у щурів на першу добу постнатального розвитку. У легенях потомства самок, що отримували L-тироксин візуально збільшується кількість альвеол. Біля альвеол і бронхів у сполучнотканинних перегородках видно розширені судини мікроциркуляторного русла заповнені кров'ю (рис. 2Б,В,Г). Правдоподібно, під дією L-тироксину прискорюються процеси морфогенезу легеневої тканини.

На 20-у добу постнатального розвитку як контрольних, так і дослідних тварин у легенях візуально збільшується діаметр бронхів у порівнянні з попереднім періодом розвитку, стінка альвеол витонщується, сполучна тканина навколо бронхів збагачена клітинними елементами. На

40-у добу постнатального розвитку у легенях щурів присутні структурні компоненти характерні для легень дорослих щурів. Термінальні бронхіоли дихотомічно поділяються на альвеолярні бронхіоли, просвіти їх візуально ширші, ніж на 20-у добу постнатального розвитку. У малих бронхах присутні складки. Просвіти альвеол виглядають дещо вужчими, як у попередньому періоді. Навколо бронхіального дерева локально спостерігаються території ущільнення сполучної тканини. У легенях щурів дослідної групи на даний період розвитку відмітили витончення стінки компонентів легеневого ацинуса.

Проведення лектиногістохімічних досліджень з лектином WGA показало, що на першу добу постнатального розвитку потомства у легенях щурів інтактної групи рецептори сіалоспецифічного лектину WGA ідентифікувалися на поверхні війчастих клітин бронхіального дерева (рис. 3А, Б) та ендотелії судин, тоді як у дослідній групі рецептори даного лектину констатували у складі базальної мембрани, у келихоподібних клітинах (рис. 3В) та у альвеолярних макрофагоцитах, котрі візуалізувалися значно частіше, ніж у легенях потомства щурів контрольної групи (рис. 3Г).

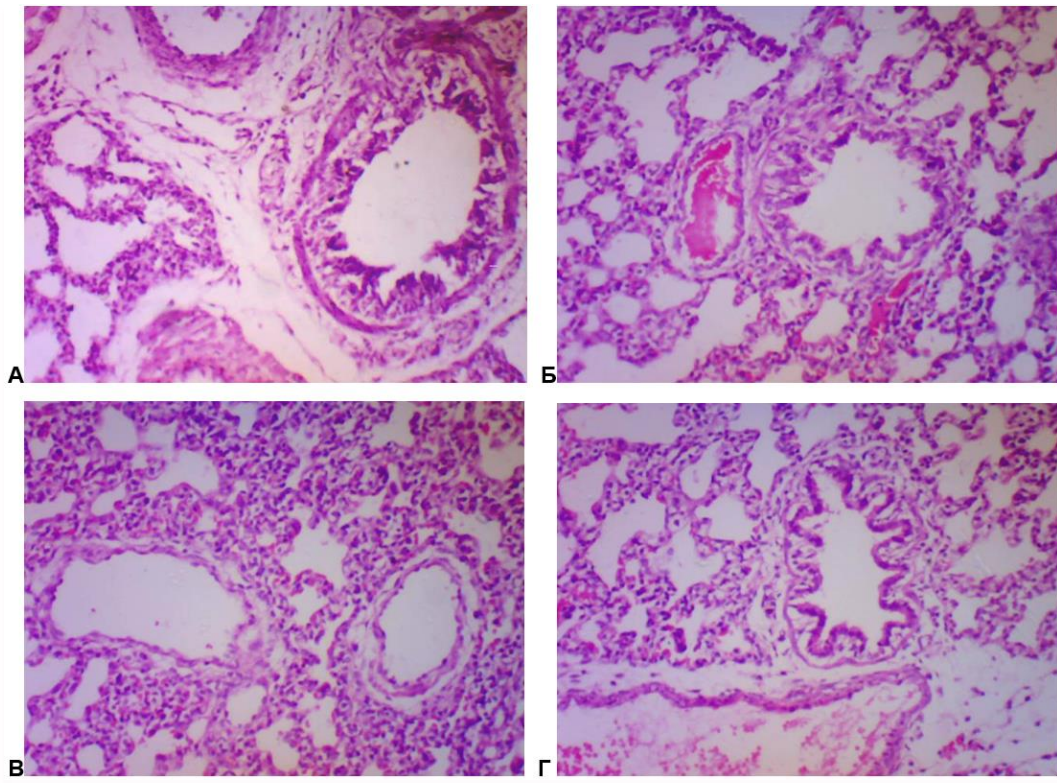


Рис. 2. Морфологічні особливості легень потомства щурів контрольної та дослідної груп на 10 добу постнатального онтогенезу. А – контроль. Ділянки сполучної тканини біля бронхів середнього і малого калібру. Б, В, Г – дослід. Судини, що оточують компоненти бронхіального дерева розширені, заповнені форменими елементами крові. Забарвлення гематоксиліном та еозином. $\times 150$.

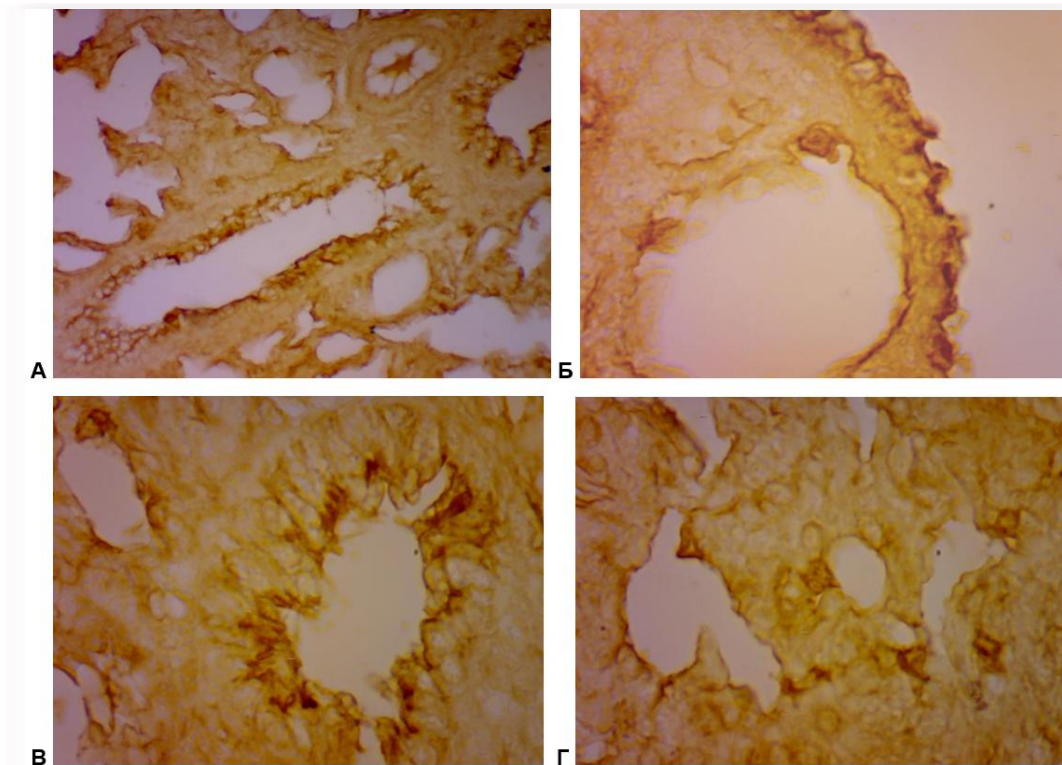


Рис.3.Експонування рецепторів лектину WGA в структурних компонентах легень потомства щурів контрольної та дослідної груп на 1 добу постнатального онтогенезу. А, Б – контроль, рецептори лектину WGA у війчастих епітеліоцитах термінальної бронхіоли (А) та макрофагоцитах (Б). А - $\times 150$. Б - $\times 300$. В – дослід– WGA-позитивна базальна мембрана, війчасті та келихоподібні клітини малого бронха. Г – експонування рецепторів сіалоспецифічного лектину WGA у альвеолярних макрофагоцитах. $\times 150$.

На 20-40-ту добу постнатального розвитку у легенях щурів дослідної групи цитотопографія рецепторів лектину WGA не змінювалась, проте

кількість макрофагів з наявністю сіалогліканів на їх поверхні зменшувалась (рис. 4 А,Б).

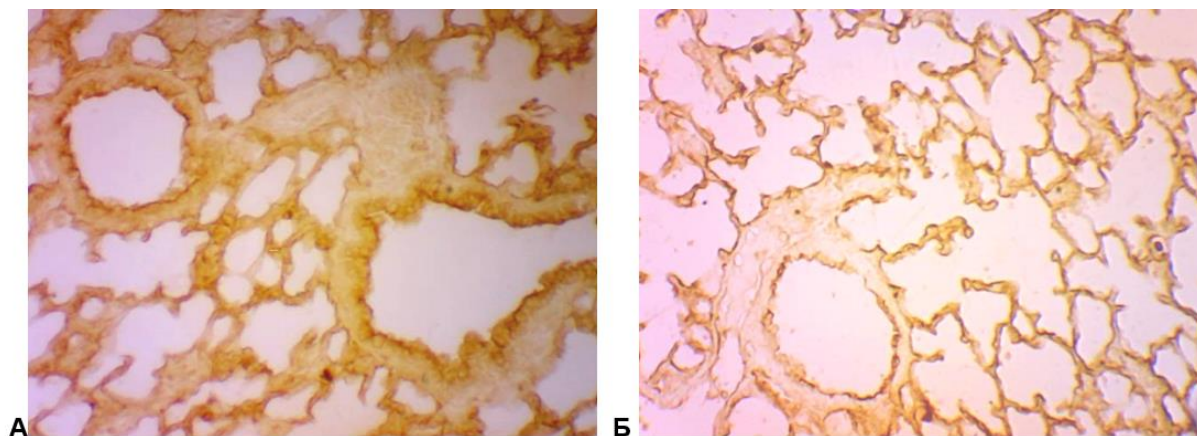


Рис.4. Експонування рецепторів лектину WGA в структурних компонентах легень потомства самок дослідної групи на 20 добу постнатального онтогенезу. А,Б - рецептори лектину WGA у в'їчастих епітеліоцитах малих бронхів і термінальної бронхіоли. ×150.

Проведені нами лектиногістохімічні дослідження легень потомства самок з експериментальним гіпертирозом співпадають з дослідженнями [5], котрі також показали, що рецептори сіалоспецифічного лектину WGA локалізовані на поверхні в'їчастих епітеліоцитів бронхіального дерева та респіраторних бронхіол, а також у стінці капілярів при хронічних обструктивних захворюваннях легень. За даними [1, 9, 10] сіалоглікани, що виявляються на слизових оболонках відіграють специфічну захисну роль, а їх модифікація на поверхні клітин може попереджувати взаємодію з лектинами патогенів.

Підсумок

Проведені дослідження показали, що в легенях потомства від самок, що отримували L-тироксин, спостерігаються процеси інтенсифікації розвитку структурних компонентів легень та поява альвеолярних макрофагоцитів з експонуванням рецепторів сіалоспецифічного лектину

WGA, кількість яких зменшується у процесі постнатального онтогенезу, що вказує на зниження імунних реакцій організму.

Перспективи подальших досліджень

У перспективі для дослідження легень в процесі онтогенезу потомства щурів з порушенням функції щитоподібної залози материнського організму планується використати ширшу панель лектинів різної вуглеводної специфічності.

Джерела фінансування

Дослідження проведено в рамках науково-дослідної роботи «Лектино- та імуногістохімічний аналіз вуглеводних детермінант нормальних та патологічно змінених клітин і тканин» (номер державної реєстрації 0117U001076).

Інформація про конфлікт інтересів

Потенційних або явних конфліктів інтересів, що пов'язані з цим рукописом, на момент публікації не існує та не передбачається.

Літературні джерела References

1. Antonyuk VO. Lektyny ta yikh syrovynni dzherela [Lectins and their resources]. Lviv: Kwart; 2005.554p. Ukrainian.
2. Divo M, Cote C, de Torres JP, Casanova C, Marin JM. Comorbidities and Risk of Mortality in Patients with Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2012; 186: 155–161.
3. Feshchenko YuI, Yashyna LO, Dzyublyk OYa. [Chronic obstructive pulmonary disease: etiology, pathogenesis, classification, diagnosis, therapy

- (draft national agreement): materials of the congress]. *Ukrayins'kyu pul'monolohichnyy zhurnal.* 2013;3(Dodatok): 7-12. Ukrainian.
4. Lutsik AD, Detyuk YeS, Lutsik MD, authors; Panasyuk YeM, editor. *Lektyny v gistokhimii [Lectins in histochemistry]*. Lviv: Vyshcha shkola; 1989. 144 p. Russian.
5. Malofiy LS. [Peculiarities and regularities of lectin receptor expression in the lungs of patients with chronic obstructive pulmonary disease in the stage of exacerbation and remission]. *Morfolohiya.*

2013;VII(3):87-93. Ukrainian.

6. Pan'kiv VI. [Influence of thyroid dysfunction on a woman's reproductive system, modern possibilities of phytotherapy]. *Reproduktyvna endokrynolohiya*. 2016; 1(27): 52-7. Ukrainian.

7. Parker GA, Catherine A. *Picut-Atlas of Histology of the Juvenile Rat*-Academic Press; 2016. 439 p.

8. Pasyechko NV, Hnat SV, Svystun II, Naumova LV. [The effect of subclinical hypothyroidism on a woman's reproductive function and the effectiveness of its correction]. *Mizhnarodnyy endokrynolohichnyy zhurnal*. 2015;1(65): 98–101. Ukrainian.

9. Roth J. Lectins for histochemical demon-

stration of glycans. *Histochem Cell Biol*. 2011;136: 117 – 130.

10. Sharon N. Lectins:Carbohydrate-specific reagents and biological recognition molecules. *J Biol Chem*.2007; 282: 2753–2764.

11. Varki A, Cummings RD, Esko JD, Freeze HH, Stanley P, Bertozzi CR et al. *Essentials of glycobiology*. (2nd edn). New York, USA: Cold Spring Harbor Laboratory Press; 2009. 29-178.

12. Yashchenko A, Pankevych L, Smolkova O, Strus Kh, Zastavnyy I, Lutsyk A. Glycoconjugates of rat lungs structural components according to lectin histochemical studies .*Int. J. Adv. Res.* 2016; 4(9):1993-2000.

Струс Х.І., Панкевич Л.В., Челпанова І.В., Юзич О.В., Ященко А.М., Луцик О.Д. Морфофункціональні особливості та сіалоглікани легень потомства самок щурів з гіперфункцією щитоподібної залози.

РЕФЕРАТ. Актуальність. За останнє десятиліття відзначено світову тенденцію до збільшення кількості хронічних обструктивних захворювань легень на 25 % у чоловіків і 69 % у жінок. **Мета.** Вивчити роль сіалогліканів за даними рецепторів лектину зародків пшениці (WGA) та морфофункціональні особливості легень потомства щурів, що розвивалося в умовах гіперфункції щитоподібної залози материнського організму. **Методи.** Експериментальне дослідження було проведене на потомстві 20 самок (10 контрольних, 10 дослідних) щурів лінії «Вістар». Впродовж 20 діб до покриття самки дослідної групи отримували препарат L-тироксин (Берлін-Хемі) у дозі 150 мкг/кг маси тіла. Після евтаназії шляхом передозування ефірного наркозу, в потомства контрольних і дослідних самок забирали легені на 1, 10, 20 та 40-у добу постнатального розвитку. Гістологічний матеріал фіксували в 4 % нейтральному формаліні, ущільнювали та заливали в парафінові блоки, виготовляли зрізи товщиною 5-7 мкм. Оглядові препарати фарбували гематоксиліном та еозином за стандартною методикою. Для виявлення сіалогліканів використовували лектин зародків пшениці WGA (*Triticum vulgare*) мічений пероксидазою, специфічний до DGlcNAc NeuNAc. **Результати.** На 1-40-у добу постнатального розвитку легені щурів інтактної групи мають типову морфологію, характерну для легень щура. На десяту добу постнатального розвитку у легнях потомства самок, що отримували L-тироксин візуально збільшується кількість альвеол, що вказує на інтенсифікацію морфогенезу легеневої тканини. Лектиногістохімічні дослідження показали, що на першу добу постнатального розвитку у легнях щурів інтактної групи рецептори сіалоспецифічного лектину WGA ідентифікувалися на поверхні війчастих клітин бронхіального дерева та ендотелії судин, тоді як у дослідній групі рецептори даного лектину констатували ще і у альвеолярних макрофагоцитах, котрі візуалізувалися значно частіше, ніж у легнях потомства щурів контрольної групи. Тоді як на 20-40-ту добу постнатального розвитку зменшувалась кількість макрофагів з наявністю сіалогліканів. **Підсумок.** Проведені дослідження показали, що в легнях потомства від самок, що отримували L-тироксин, спостерігаються процеси інтенсифікації розвитку структурних компонентів легень та поява альвеолярних макрофагоцитів з наявністю рецепторів сіалоспецифічного лектину WGA, кількість яких зменшується у процесі постнатального онтогенезу, що вказує на зниження імунних реакцій організму.

Ключові слова: легені, щури, щитоподібна залоза, L-тироксин, лектиногістохімія.

Струс Х.И., Панкевич Л.В., Челпанова И.В., Юзич О.В., Ященко А.М., Луцик А.Д. Морфофункциональные особенности и сиалогликаны легких потомства самок крыс с гиперфункцией щитовидной железы.

РЕФЕРАТ. Актуальность. За последнее десятилетие отмечено мировую тенденцию к увеличению количества хронических обструктивных заболеваний легких на 25% у мужчин и 69% у женщин. **Цель.** Изучить роль сиалогликанов по данным рецепторов лектина зародышей пшеницы (WGA) и морфофункциональные особенности легких потомства крыс, которое развивалось в условиях гиперфункции щитовидной железы материнского организма. **Методы.** Экспериментальное исследование проведено на потомстве 20 самок (10 контрольных, 10 опытных) крыс линии «Вистар». В течение 20 дней до покрытия, самки экспериментальной группы получали препарат L-тироксин (Берлин-Хемі) в дозе 150 мкг / кг массы тела. После эвтаназии путем передозировки эфирного наркоза, у потомства контрольных и опыт-

ных самок забирали легкие на 1, 10, 20 и 40-е сутки постнатального развития. Гистологический материал фиксировали в 4% нейтральном формалине, уплотняли и заливали в парафиновые блоки, изготавливали срезы толщиной 5-7 мкм. Обзорные препараты окрашивали гематоксилином и эозином по стандартной методике. Для выявления сиалогликанов использовали лектин зародышей пшеницы WGA (*Triticum vulgare*) меченый пероксидазой, специфичный к DGlcNAc NeuNAc. **Результаты.** На 1-40-е сутки постнатального развития потомства легкие крыс интактной группы имеют типичную морфологию, характерную для легких крыс данного возраста. На десятые сутки постнатального развития в легких потомства самок, получавших L-тироксин, визуально увеличивается количество альвеол, что указывает на интенсификацию морфогенеза легочной ткани. Лектиногистохимические исследования показали, что в первые сутки постнатального развития в легких крыс интактной группы рецепторы сиалоспецифичного лектина WGA идентифицировались на поверхности реснитчатых эпителиоцитов бронхиального дерева и эндотелии сосудов, тогда как в опытной группе рецепторы данного лектина констатировали еще и в альвеолярных макрофагоцитах, которые визуализировались значительно чаще, чем в легких потомства крыс контрольной группы. Тогда как на 20-40-е сутки постнатального развития уменьшалось количество макрофагов с наличием сиалогликанов. **Заключение.** Проведенные исследования показали, что в легких потомства от самок, получавших L-тироксин, наблюдаются процессы интенсификации развития структурных компонентов легких и появление альвеолярных макрофагоцитов с наличием рецепторов сиалоспецифичного лектина WGA, количество которых уменьшается в процессе постнатального онтогенеза, что указывает на снижение иммунных реакций организма.

Ключевые слова: легкие, крысы, щитовидная железа, L-тироксин, лектиногистохимия.