

В. М. Запорожан, Г. С. Маринюк, М. Ю. Новіков

## КАРЦИНОМА ГЕРЕНА НА ФОНІ ГІПО- Й ГІПЕРТИРЕОЇДНОГО СТАНУ У ЛАБОРАТОРНИХ ЩУРІВ

Одеський національний медичний університет, Одеса, Україна,  
ДУ «Кримський державний медичний університет імені С. І. Георгієвського»,  
Сімферополь, Україна

УДК 618.145-006.66:616.441-008.6

В. Н. Запорожан, А. С. Маринюк, Н. Ю. Новиков

### КАРЦИНОМА ГЕРЕНА НА ФОНЕ ГИПО- И ГИПЕРТИРЕОИДНОГО СОСТОЯНИЯ У ЛАБОРАТОРНЫХ КРЫС

*Одесский национальный медицинский университет, Одесса, Украина,*

*ГУ «Крымский государственный медицинский университет имени С. И. Георгиевского»,  
Симферополь, Украина*

Целью данного исследования была оценка влияния гипо- и гипертиреоидного состояния на течение опухолевого процесса в условиях эксперимента (на примере опухоли Герена). Показано, что при гипертиреоидном состоянии торможение роста опухоли составляет 26 % от контрольных значений, а при гипотиреозе — 12 %. Макроскопические изменения в опухолевой ткани сопровождаются смещением ядерно-цитоплазматического соотношения, уменьшением частоты атипичных митозов при гипертиреозе и увеличением этого показателя при гипотиреозе. Обсуждается роль тиреоидного статуса в определении динамики опухолевого роста.

**Ключевые слова:** рак эндометрия, карцинома Герена, гипертиреоз, гипотиреоз.

UDC 618.145-006.66:616.441-008.6

V. M. Zaporozhan, G. S. Marynyuk, M. Yu. Novikov

### GUÉRIN'S CARCINOMA AT THE BACKGROUND OF HYPO- AND HYPERTHYREOID STATES IN THE LABORATORY RATS

*The Odessa National Medical University, Odessa, Ukraine,*

*S. I. Georgievskiy Crimean State Medical University, Simferopol, Ukraine*

The actuality of the problem is associated with the fact that cancer of endometrium is connected with pathology of the thyroid gland and it takes the fourth place among oncological tumors of women (after breast cancer, cancer of the lungs and large intestine). This type of cancer is 20% of all tumors of women's genitals. The aim of investigation was to assess the influence of hypo- and hyperthyroid state on the tumor process under experimental conditions (at the example of Guérin's carcinoma).

The experiment was performed on female Wistar rats weighing 160–180 g, which were divided into three groups: control group, animals with simulated hyperthyroid state and animals with simulated hypothyroid state. In 7 days after inoculation of tumor suspension we measured the orthogonal dimensions of the tumor, calculated its volume, and after removal of animals from the experiment performed microscopic examination of the samples of tumor and uterine body.

There was demonstrated that inhibition of Guérin's carcinoma growth is 26% of control values for hyperthyroid state and 12% — for hypothyroid state. Induced experimental hyper- and hypothyroid states contribute to progression of Guérin's carcinoma, which was followed with decreased nuclear-cytoplasmatic ratio and increased frequency of atypical mitosis. There is discussed the role of thyroid state in the determination of the dynamics of tumors growth.

**Key words:** endometrial cancer, Guérin's carcinoma, hyperthyroidism, hypothyroidism.

#### Вступ

У структурі захворюваності жіночого населення в Україні рак тіла матки (РТМ) посідає четверте місце [1]. Незважаючи на численні дослідження, спрямовані на вивчення етіології та патогенезу РТМ у більшості країн світу, кількість хворих на рак даної локалізації продовжує неухильно зроста-

ти. Основною причиною виникнення гіперпластичних процесів ендометрія (ГПЕ) та пухлин у гормонозалежних тканинах є порушення утворення естрогенів і прогестерону [2] і, як наслідок — їх кількісного рівня.

Важливу роль у підвищенні концентрації естрогену та генезі ГПЕ відіграють нейрогуморальні розлади та порушення обміну речовин, що виникають

у результаті супровідних екстрагенітальних порушень. Щитоподібна залоза (ЩЗ), яка є однією з найважливіших ланок ендокринної системи, спричиняє істотний вплив на репродуктивну функцію [3].

За даними деяких авторів, тиреоїдні гормони діють на метаболізм, зростання, розвиток і диференціювання клітин у нормі та при пухлинному рос-



ті [4]. Відомо, що дисфункція ЩЗ впливає на ріст пухлин різного генезу як провокуючий фактор унаслідок функціональних порушень у гіпофізарно-оваріальній системі [5].

Гіпотиреоз, як і тиреотоксикоз, є найчастішою причиною ановуляції та дисфункціональних маткових кровотеч. При вивченні функції ЩЗ у хворих із ГПЕ виявлена наявність гіпергормонального профілю у 30,4 %, гіпогормонального — у 42,1 % [6]. Результати досліджень секреції гонадотропних гормонів при гіпертиреозі та гіпотиреозі суперечливі.

**Метою** даного дослідження була оцінка впливу гіпо- та гіпертиреоїдних станів на перебіг пухлинного процесу в умовах експерименту (на прикладі пухлини Герена).

#### Матеріали та методи дослідження

Як експериментальну модель раку ендометрія ми використовували карциному Герена — класичну модель низькодиференційної, неметастазуючої, солідної аденокарциноми тіла матки щурів, яка здатна у короткі терміни інтенсивно прогресувати і призводити до значної смертності експериментальних тварин.

Дослідження проводилося згідно з Законом України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (№ 27, ст. 230, від 2006 р.) із змінами, внесеними згідно з Законом № 1759-VI (1759-17) від 15.12.2009, ВВР, 2010, № 9, ст. 76, а також загальними етичними принципами експериментів на тваринах (I Національний конгрес з біоетики, 20.09.2001, Київ) та «Етичним кодексом вченого України» (Національна академія наук України, 2009).

Експеримент виконували на щурах-самцях лінії Вістар масою тіла 160–180 г. Тварини були розподілені на три групи. Перша група (n=15) — контрольна. До другої групи належали щури-самці (n=15), яким

моделювали гіпертиреоїдний стан, додаючи до питної води L-тироксин (виробництво фірми БерлінХемі, Німеччина) дозою 50 мкг на 100 г маси тіла протягом 14 днів. Третій групі щурів-самців (n=15) моделювали гіпотиреоїдний стан, додаючи до питної води мерказоліл (виробництво ООО «Фармацевтична компанія “Здоров’я”», Україна) дозою 5 мкг на 100 г маси тіла протягом 14 днів.

Для формування моделі карциноми Герена тваринам (n=45) підшкірно у ділянку стегна вводили 1,0 мл 20 % суспензії пухлинних клітин, отриманої з 10-добової пухлини. Первинний матеріал для перевивання пухлини був одержаний у ДУ «Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р. Є. Кавецького». Спостереження за тваринами виконували протягом 21 доби, після чого щурів виводили з експерименту шляхом декапітації під легкою ефірною анестезією. Для наркозу використовували діетиловий ефір.

Дослідження росту карциноми Герена починали на 8-му добу після перевивання. Після інюкації пухлини (з 8-го по 21-й день) щодня вимірювали розмір пухлини для оцінки динаміки збільшення об’єму *in vivo*. Заміряли ортогональні розміри пухлини штангенциркулем. Об’єм (см<sup>3</sup>) пухлини розраховували за формулою

$$V = A \cdot B^2 / 2,$$

де А — найбільший діаметр пухлини; В — найменший діаметр пухлини [7].

У ході спостережень контролювалася смертність в експериментальних групах.

Коефіцієнт гальмування росту пухлини (ГРП) розраховували за формулою

$$\text{ГРП} = (V_k - V_0) / V_k \cdot 100,$$

де V<sub>k</sub> — об’єм пухлини у групі контролю; V<sub>0</sub> — об’єм пухлини у дослідних групах.

Наприкінці експерименту брали зразки пухлинної тканини за допомогою ножиць. Після відповідної проводки препарати заключали у парафінові блоки, забарвлювали гематоксиліном й еозином та аналізували за допомогою оптичного мікроскопа Olympus CX41, фотокамери Olympus C5050Z і програмного обладнання Olympus DP-Soft 3.1.

Статистичну обробку одержаних результатів проводили методами дисперсійного та кореляційного аналізу за допомогою спеціалізованого програмного забезпечення Statistica 10.0 (StatSoft Inc., США).

#### Результати дослідження та їх обговорення

При дослідженні динаміки росту пухлини за умов експериментального гіпертиреозу та гіпотиреозу встановлено, що у тварин II та III дослідних груп темпи приросту пухлини відрізнялися від контрольних значень (табл. 1).

Загалом, для щурів II дослідної групи був характерний швидкий ріст пухлини геометричних розмірів на початковій стадії експерименту з подальшим регресом наприкінці дослідження. Натомість у щурів III дослідної групи збільшення об’єму пухлини було повільним і регресу розмірів утворення не спостерігалось.

У зв’язку з цим значний інтерес викликають результати гістологічного дослідження мікропрепаратів тканин, одержаних у щурів різних експериментальних серій, наприкінці

Таблиця 1

#### Ріст пухлини у тварин із різним тиреоїдним станом

Групи	ГРП, %	Об’єм пухлини, см <sup>3</sup>
I (контроль)	—	3,87±0,50*
II (гіпертиреоз)	26	2,84±0,30*
III (гіпотиреоз)	12	3,42±0,50*

Примітка. \* — відмінності з контролем є достовірними (p<0,05).



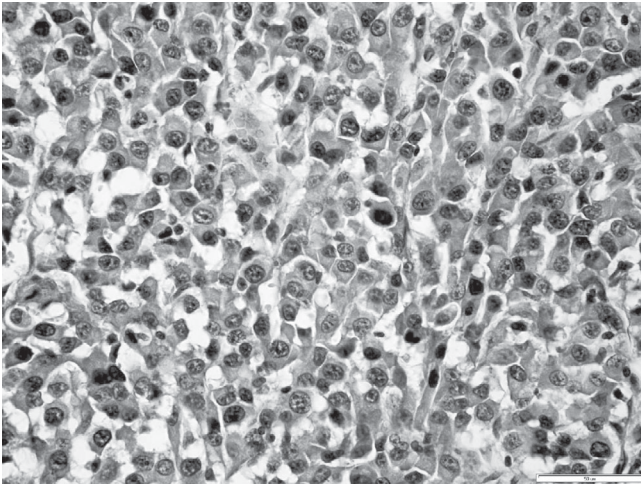


Рис. 1. Пухлина (II група). Забарвлення гематоксилином та еозином.  $\times 400$

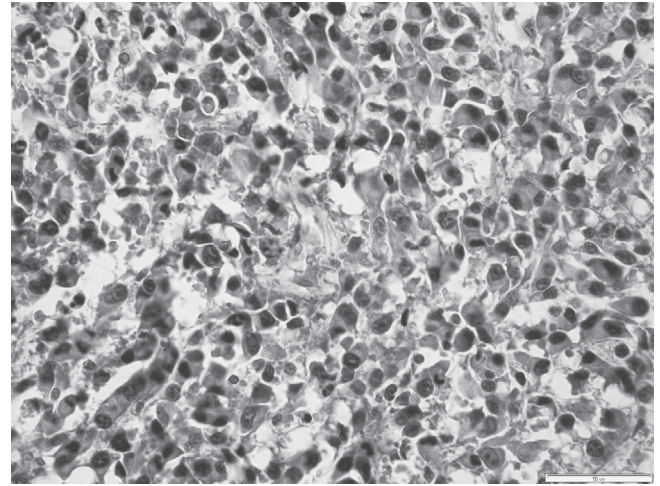


Рис. 2. Пухлина (III група). Забарвлення гематоксилином та еозином.  $\times 400$

досліді. У II групі пухлина мала медулярну будову з вираженим проміжним набряком. Відзначалися виражений клітинний поліморфізм і атипізм, у препаратах спостерігалася велика кількість гіперхромних клітин. Середня кількість атипичних мітозів на 1000 клітин дорівнювала  $14,7 \pm 1,8$ . Співвідношення площі ядра і площі цитоплазми пухлинних клітин становило приблизно 1 : 2,5. Цитоплазма пухлинних клітин була однорідною, різко еозинотильною або світлою за рахунок формування великих вакуоль і гідратації. Ядра клітин поліморфні, часто гіперхромні. Більшість ядер світлі, з вузьким периферичним обідком хроматину та добре помітними ядерцями низької оптичної щільності. Форма ядер вельми різноманітна, і за цією ознакою розходжень з контрольною групою не встановлено. Хроматин конденсований нерівномірно по всій площі, а на периферії ядра часто розташовувалося 3, 4 або більше добре помітних ядерця (рис. 1).

При подальшому аналізі виявлялися зони некрозу у вигляді безструктурних ділянок на гістологічному зрізі. Серед некротичного детриту спостерігалися дрібнодисперсний хроматин, зруйновані клітини, кров. Судини в пухлині розташовані нерівномірно, середня

відстань між найближчими судинами у зрізах становила  $(160,3 \pm 78,2)$  мкм. Площа судин займала 1,5 % площі зрізу.

Натомість у тварин із моделюваним гіпотиреоїдним станом відзначалися явища вираженої клітинної атипії (рис. 2), при цьому середня кількість атипичних мітозів на 1000 клітин дорівнювала  $23,60 \pm 3,53$ .

Цитоплазма пухлинних клітин однорідна, еозинотильна. Траплялися клітини з великими вакуолями, що займали практично всю площу цитоплазми. Виявлялося чимало гіперхромних ядер, що значно розрізнялися за формою, розмірами та кількістю хроматину. Траплялися світлі, з вузьким тонким хроматиновим обідком та інтенсивно забарвлені ядра. Форма ядер, як і в інших групах, украй різноманітна. Часто

у не дуже забарвлених ядрах хроматин формував 2–3 або 4 добре помітних ядерця. Зони некрозу виявлялися у вигляді безструктурного детриту. Судини в пухлині розташовані на різній дистанції одна від одної, середня відстань між найближчими судинами у зрізах становила  $(163,8 \pm 59,3)$  мкм. Площа судин займала 1,2 % площі зрізу (табл. 2).

### Висновки

1. Найбільша активність пухлинного росту спостерігалася в III групі тварин, що одержували мерказоліл.

2. При моделюванні гіпертиреозу кількість клітин, що перебувають у стадії атипичного мітотичного поділу, зменшується до  $14,7 \pm 1,8$ , а при моделюванні гіпотиреозу зростає до  $23,60 \pm 3,53$ .

Таблиця 2

### Характеристики пухлинного росту в експериментальних групах

Показник	Групи		
	I	II	III
Кількість атипичних мітозів на 1000 клітин	$19,30 \pm 1,16^*$	$14,7 \pm 1,8^*$	$23,60 \pm 3,53^*$
Ядерно-цитоплазматичне співвідношення	1 : 3,5*	1 : 2,5*	1 : 2,5*
Відносна площа судин у зрізі, %	2	1,5	1,2
Дистанція між судинами, мкм	$241,4 \pm 65,6^*$	$160,3 \pm 78,2^*$	$163,8 \pm 59,3^*$

Примітка. \* — відмінності між групами є статистично значущими ( $p < 0,05$ ).



3. Індуковані експериментальні гіпер- і гіпотиреоз сприяють прогресії пухлини Герена, що проявляється зміщенням ядерно-цитоплазматичного співвідношення та зменшенням відносної площі судин і дистанції між ними у тканині пухлини.

4. Гіпертиреоїдний і, більшою мірою, гіпотиреоїдний стан є прогностично несприятливими факторами для перебігу пухлинних процесів в ендометрії.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Рак в Україні, 2008–2009: захворюваність, смертність, показники діяльності онкологічної служби // Бюлетень Національного канцер-реєстру України. – 2010. – № 11. – С. 54.

2. Новые подходы к ведению пациенток с гиперплазией эндометрия / Н. Ю. Мелехова, А. Н. Иванян, З. В. Калоева, И. И. Буцык // Материалы 9-го Российского научного форума «Мать и дитя». – М., 2007. – С. 463–464.

3. Stavreus A. Paracrine interactions of thyroid hormones and thyroid stimulation hormone in the female reproductive tract have an impact on female fertility / A. Stavreus // Front. En-

docrinology (Lausanne). – 2012. – Vol. 3. – P. 50.

4. Chiamolera M. I. Minireview: Thyrotropin-releasing hormone and the thyroid hormone feedback mechanism / M. I. Chiamolera, F. E. Wondisford // Endocrinology. – 2009. – Vol. 150, N 3. – P. 1091–1096.

5. Паньків В. І. Заболевания щитовидной железы и репродуктивная функция женщины // В. И. Паньків, Е. О. Литвак // Здоровье Украины. – 2011. – Т. 7, № 47. – С. 626–635.

6. Нефф Е. И. Оптимизация методов лечения гиперпластических процессов эндометрия у пациенток с экстрагенитальной патологией / Е. И. Нефф, Т. А. Обоскалова, Е. Ю. Глухов // Материалы 9-го Российского научного форума «Мать и дитя». – М., 2007. – С. 476–477.

7. Carlsson G. Estimation of liver tumor volume using different formulas — an experimental study in rats / G. Carlsson, B. Gullberg, L. Hafstrom // J. Cancer Res. Clin. Oncol. – 1983. – Vol. 10, N 5. – P. 20–23.

#### REFERENCES

1. Cancer in Ukraine, 2008–2009: morbidity, mortality, and indicators of cancer service. *Bulletin of the National Cancer Registry of Ukraine* 2010; 11: 54.

2. Melekhova, N.U., Ivanyan, A.N., Kaloeva, Z.V., Butsyk, I.I. New Ap-

proaches to management women suffering from hyperplasia of endometrium, *Materialy 9 Rossiyskogo nauchnogo foruma "Mat i ditya"* (Proceedings of the ninth Russian Scientific Forum "Mother and child"), M., 2007: 463-464.

3. Stavreus, A. Paracrine interactions of thyroid hormones and thyroid stimulation hormone in the female reproductive tract have an impact on female fertility. *Front. Endocrinology (Lausanne)* 2012; 3: 50.

4. Chiamolera, M.I. Minireview: Thyrotropin-releasing hormone and the thyroid hormone feedback mechanism. *Endocrinology* 2009; 150(3): 1091-1096.

5. Pankiv, V.I., Litvak, Ye.O. Diseases of the thyroid gland and reproductive function of a woman. *Health of Ukraine* 2011; 7(47): 626-635.

6. Neff, Ye.I., Oboskalova, T.A., Glukhov, Ye. Yu. Optimizing of the methods of the treatment of endometrial hyperplastic processes in patients with extragenital pathology, *Materialy 9 Rossiyskogo nauchnogo foruma "Math i ditya"* (Proceedings of the ninth Russian Scientific Forum "Mother and child"), M., 2007: 476-477.

7. Carlsson G., Gullberg B., Hafstrom L. Estimation of liver tumor volume using different formulas — an experimental study in rats. *Cancer Res. Clin. Oncol.* 1983; 10(5): 20-23.

Надійшла 10.09.2012

УДК 615.2/3:577.115:[591.143+591.175]:591.139

О. О. Тимофійчук

## МОДУЛЯЦІЯ МЕЛІПРАМІНОМ ВМІСТУ ГЛІЦЕРОФОСФОЛІПІДІВ У СИРОВАТЦІ КРОВІ ТА СКЕЛЕТНИХ М'ЯЗАХ СТАРИХ ЩУРІВ

НДІ біології Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна,  
Харків, Україна

УДК 615.2/3:577.115:[591.143+591.175]:591.139

О. А. Тимофійчук

### МОДУЛЯЦИЯ МЕЛИПРАМИНОМ СОДЕРЖАНИЯ ГЛИЦЕРОФОСФОЛИПИДОВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ И СКЕЛЕТНЫХ МЫШЦАХ СТАРЫХ КРЫС

НИИ биологии Харьковского национального университета имени В. Н. Каразина,  
Харьков, Украина

Изучены возрастные особенности содержания глицерофосфолипидов в сыворотке крови, диафрагме, икроножной и камбаловидной мышцах 3- и 24-месячных крыс, а также влияние трициклического антидепрессанта мелипрамина на уровень глицерофосфолипидов в указанных типах тканей старых крыс. Установлено, что мелипрамин при продолжительном внутримышечном введении оказывает модулирующий эффект на сниженное в старости содержание глицерофосфолипидов в скелетной мускулатуре и сыворотке крови крыс 24-месячного возраста.

**Ключевые слова:** фосфолипиды, мелипрамин, скелетная мускулатура, сыворотка крови, старение.

