

6. Зуев В.М. Применение CO<sub>2</sub>-лазера для лечения доброкачественных заболеваний шейки матки // Акушерство и гинекология. - 1985. - №6. - С.69-71

7. Козлюк В.А., Козлюк А.С., Процаков К.В. Клинические, молекулярно-биологические и цитоморфологические особенности заболеваний шейки матки на фоне папилломавирусной инфекции // Репродуктивное здоровье женщины. - 2004. - № 1 (17). - С. 40-46.

8. Кобаченко О.В., Луценко Г.Є. Особливості клінічного перебігу мікробіологічних, гормональних показників, стану імунної системи у хворих на лейкоплазію шийки

матки // Педіатрія, акушерство та гінекологія. - 2002. - № 4. - С. 91-93.

9. Кисина В.И., Михалко О.Е., Мерзабекова М.А., Полищук Н.А. Роль бактерий и вирусов в патогенезе фоновых и диспластических процессов слизистой оболочки шейки матки и влагалища // Вестник дерматологии и венерологии. - 2001. - № 2. - С. 40-45.

10. Хомінська З.Б., Туманова Л.Є., Коломієць О.В., Шапошникова М.Т. Кольпоскопічно-цитологічні паралелі та їх взаємозв'язок з фоновими та передраковими змінами шийки матки // Здоровье женщины. - 2004. - № 3 (19). - С. 76-79.

УДК 618.11 + 618.14

**В.К. Кондратюк**

## ІМУНОГІСТОХІМІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ РЕЦЕПТОРНОГО АПАРАТА ТА РЕГУЛЯТОРІВ АПОПТОЗА ПУХЛИНОПОДІБНИХ ПРОЦЕСІВ ЯЄЧНИКІВ

*ДУ "Інститут педіатрії, акушерства та гінекології АМН України"*

ІМУНОГІСТОХІМІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ РЕЦЕПТОРНОГО АПАРАТА ТА РЕГУЛЯТОРІВ АПОПТОЗА ПУХЛИНОПОДІБНИХ ПРОЦЕСІВ ЯЄЧНИКІВ. В статті дана морфологічна характеристика, визначено вміст рецепторів до естрогенів та прогестерону, а також досліджені імуногістохімічні особливості регуляторів апоптоза в яєчниках та ендометрії у пацієнток з пухлиноподібними процесами яєчників. Експресія гена, який кодує синтез протеїну р53, в клітинах капсул пухлиноподібних утворень яєчників не спостерігалась, що вказує на доброякісність даної патології.

ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ РЕЦЕПТОРНОГО АППАРАТА И РЕГУЛЯТОРОВ АПОПТОЗА ОПУХОЛЕВИДНЫХ ПРОЦЕССОВ ЯИЧНИКОВ. В статье дана морфологическая характеристика, определено содержание рецепторов эстрогенов и прогестерона, а также исследованы иммуногистохимические особенности регуляторов апоптоза в яичниках и эндометрии у пациенток с опухолевидными процессами яичников. Экспрессия гена, кодирующего синтез протеина р53 в клетках капсул опухолевидных образований яичников не наблюдалась, что свидетельствует о доброкачественности данной патологии.

IMMUNOHISTOCHEMISTRY CONDITION OF RECEPTOR DEVICE AND REGULATORS OF APOPTOSIS OF THE OVARIUM TUMOR-LIKE FORMATIONS. In the article is given morphological characteristic, is defined maintenances of estrogen and progesterone receptors, and also are investigated immunohistochemistry features of apoptosis regulators at patients with ovary tumor-like formation. An expression of a gene of a protein coding synthesis p53 in capsules of ovary tumor-like formation was not revealed, that indicates it's non-malignancy.

**Ключові слова:** пухлиноподібні процеси яєчників, рецепторний апарат, регулятори апоптоза, імуногістохімія.

**Ключевые слова:** опухолевидные процессы яичников, рецепторный аппарат, апоптоз, иммуногистохимия.

**Key words:** the ovary tumor-like formation, receptors device, apoptosis, immunohistochemistry.

**ВСТУП.** За останні роки дослідження апоптоза стали одними з самих актуальних в сучасній науці. Не дивлячись на велику кількість наукових праць до теперішнього часу кінцево не досліджені механізми запрограмованої загибелі клітин, не з'ясована регуляція апоптоза окремих клітин в цілому багатоклітинному організмі [1,2].

Прийнято вважати, що основне призначення апоптоза як фізіологічного процесу полягає у підтримці постійної кількості клітинних елементів в органах та тканинах та видалення клітин, які

пройшли свій життєвий цикл. Відміну від загибелі клітин при некрозі, процеси апоптозу проходять в ядрі та цитоплазмі клітини при збереженні цілісності їх клітинної оболонки [3,4].

Апоптотична загибель клітин спостерігається при різних патологічних станах організму. Цим шляхом здійснюється загибель клітин в ендокрин-залежних тканинах, при зміні балансу концентрації відповідного гормону [5, 6].

Актуальність досліджуваного питання визначається взаємозв'язком порушень регуляції про-

цесу запрограмованої загибелі клітини з більшістю захворювань. Дослідження та з'ясування конкретних порушень регуляції апоптозу дасть змогу визначити етіологію та патогенез багатьох захворювань і як наслідок – можливість корекції запрограмованої загибелі клітини [7, 8].

Базуючись на відомих знаннях про запрограмовану загибель клітини існує широкий ряд препаратів, що дають змогу регулювати цей процес в різних типах клітин. Так, дані про рецептор-опосередковану регуляцію апоптоза дозволяють використовувати їх для терапії гормон-залежних утворень [9, 10].

Таким чином, апоптоз є загально біологічним механізмом, який відповідає за підтримку констант численності клітинних популяцій, а також формоутворення та вибраковку дефектних клітин. Порушення регуляції апоптоза призводить до виникнення різних захворювань, пов'язаних з посиленням або пригніченням апоптозу. Вивчення механізмів регуляції різних етапів цього процесу дасть змогу певним чином діяти на його окремі етапи з метою їх регуляції та корекції.

Мета роботи – дати оцінку морфологічних особливостей, вмісту рецепторів естрогенів та прогестерону і оцінити імуногістохімічні особливості регуляторів апоптозу в яєчниках та ендометрії у пацієнток з пухлиноподібними ураженнями яєчників.

**МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ.** Було проаналізовано результати гістологічного дослідження матеріалу, який отримано під час оперативного лікування 161 жінки з пухлиноподібними ураженнями яєчників. Середній вік пацієнток склав  $28 \pm 6$  років. Найбільш часто серед пацієнток зустрічались кісти жовтого тіла – 37,1 % жінок, фолікулярні кісти виявлено у 25,7 %, ендометріодні кісти у 19,0 % хворих, параоваріальні кісти – у 6,8 % та поєднані форми пухлиноподібних уражень яєчників у 37,1 % обстежених. Використано гістологічну класифікацію пухлин яєчників ВООЗ, яку укладено в 1973 році. Методи рішення завдань включали: гістологічні – пофарбування гематоксилин-еозином та пікрофуксином за Ван-Гінзон; імуногістохімічний (стрептавідин – пероксидазний) метод на парафінових зрізах тканин з використанням кіт моноклональних антитіл проти EP і ПР (DAKO, Данія) для визначення стану рецепторного апарату яєчників. Використано непрямий стрептавідин-пероксидазний метод для виявлення експресії гену, який кодує синтез протеїну p53 (дана методика визначає ступінь експресії гену, який кодує синтез проапоптотичного протеїну p53), а також для виявлення експресії гену, який кодує синтез протеїну bcl-2 (дана методика визначає ступінь експресії гену, який кодує синтез антиапоптотичного протеїну bcl-2).

**РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ.** Капсули фолікулярних кісти та кіст жовтого тіла, являли собою похідні фолікулів і строми

яєчника, кістозно-проліферативні зміни покривного епітелія. Гістологічна структура фолікулярних кіст відповідала різним стадіям фолікулогенезу. Капсули фолікулярних кіст невеликих розмірів (до 4 см) були утворені щільно розміщеними круглими гранульозними клітинами й лютеїнізованими веретенноподібними клітинами внутрішньої теки, зовнішнім сполучнотканним шаром, що містив фіброзні та колагенові волокна, поодинокі кровоносні капіляри.

Зі збільшенням розміру кісти фолікулярний епітелій потоншувався та в ряді випадків не диференціювався. В цих випадках в якості диференційного маркера такого типу пухлиноподібного ураження яєчника виступала тека лютеїнові клітини. Стан рецепторного апарату в епітелії стінок фолікулярних кіст характеризувався відсутністю експресії рецепторів до естрогенів та до прогестерону або слабкопозитивною непостійною експресією рецепторів до прогестерону.

Стінка параоваріальних кіст гістологічно складалась з двох шарів: зовнішнього – сполучнотканного та внутрішнього – епітеліального, який був висланий однорядним циліндричним епітелієм, а деякі з епітеліоцитів містили апікальні волоски. Серед епітеліоцитів зустрічались інтактні до фарбників так звані "світлі" клітини, котрі відносяться до клітин APUD системи з характерними ендокринними та секреторними властивостями. Колагенові волокна з фібробластами та лімфоцитами, кровоносні капіляри розміщувались під базальною мембраною епітелія стінки параоваріальних кіст. В епітелії стінки даного типу пухлиноподібного ураження яєчників було виявлено відсутність або наявність в ній непостійної слабкопозитивної експресії рецепторів до естрогенів та до прогестерону.

При імуногістохімічному дослідженні регуляторів апоптотичної активності було виявлено нерівномірну вогнищеву експресію гену, який кодує синтез протеїну bcl-2 в цитоплазмі клітин стінки та відсутність експресії гену, який кодує синтез протеїну p53.

Для кіст жовтого тіла була характерна присутність внутрішньої фіброзної вистілки, за якою локалізувались шари гранульозо-тека-лютеїнових клітин. При імуногістохімічному дослідженні регуляторів апоптозу в клітинах кіст жовтого тіла виявлено: слабкопозитивна експресія гену, який кодує синтез протеїну bcl-2 в цитоплазмі окремих клітин стінки кісти жовтого тіла; експресія гену, який кодує синтез протеїну p53 в клітинах цих утворень була негативна.

В тканинах ендометріодних кіст виявлено наявність цитогенної строми, а також наявність залозистих структур ендометрія з характерною нерівномірною інфільтрацією стінки кіст лімфоцитами.

Рецепторний апарат в стінці даного типу пухлиноподібного ураження яєчників характеризу-

вався наявністю варіабельності: від відсутності до помірної та до високої експресії рецепторів до естрогенів і прогестерону.

При імуногістохімічному дослідженні регуляторів апоптозу в клітинах ендометрію кіст було виявлено: вогнищева позитивна експресія гену, який кодує синтез протеїну bcl-2 в цитоплазмі клітин стінки цих утворень та негативна експресія гену, який кодує синтез протеїну p53 в клітинах стінки кіст.

У 20% пацієнок цієї групи ендометрію кісти яєчників поєднувалися із аденоміозом. Результати проведених досліджень вказували на наявність значно зниженої рецептивності до естрогенів та прогестерону в ендометрії у хворих з даним різновидом пухлиноподібних уражень яєчників та аденоміозом.

При імуногістохімічному дослідженні регуляторів апоптозу в клітинах ендометрія було виявлено слабкопозитивну експресію гену, який кодує синтез протеїну bcl-2 в цитоплазмі окремих клітин строми ендометрія та негативну експресію гену, який кодує синтез протеїну p53 в ендометріальних клітинах.

#### Література

1. Maitoko K., Sasaki H. Gonadotropin-releasing hormone agonist inhibits estrone sulfatase expression of cystic endometriosis in the ovary // *Fertil. Steril.* – 2004. – Aug; 82(2). – pp.322-6.

2. Zwain I., Amato P. Clusterin protects granulosa cells from apoptotic cell death during follicular atresia. // *Exp. Cell. Res.* – 2000. – May 25. – 257(1) – pp.101-110.

3. Parborell F., Pecci A., Gonzalez O., Vitale A., Tesone M. Effects of a gonadotropin-releasing hormone agonist on rat ovarian follicle apoptosis: regulation by epidermal growth factor and the expression of Bcl-2-related genes // *Biol. Reprod.* – 2002. – Aug; 67(2). – pp. 481-486.

4. Related Articles, Links Yu.Y.S., Sui H.S., Han Z.B., Li W., Luo M.J., Tan J.H. Apoptosis in granulosa cells during follicular atresia: relationship with steroids // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2000. – Jan; 85(1). – pp. 449-59.

5. Manabe N., Goto Y., Matsuda-Minehata F., Inoue N., Maeda A., Sakamaki K., Miyano T. Apoptosis and ovarian function: novel perspectives from the teleosts // *Biol. Reprod.* – 2001. – Jan; 64(1). – pp. 264-271.

**ВИСНОВКИ.** 1. Рецепторний апарат епітелію капсул пухлиноподібних уражень яєчників був різномірним і залежав від морфологічних особливостей епітелію стінки пухлиноподібного ураження яєчників.

2. Під час імуногістохімічного дослідження регуляторів апоптотичної активності в клітинах пухлиноподібних утворень яєчників нами були отримані наступні результати: експресія гену, який кодує синтез протеїну p53, в клітинах капсул пухлиноподібних утворень яєчників була негативною, що вказує на їх доброякісність.

3. Виявлено наявність значно зниженої рецептивності до естрогенів та прогестерону в ендометрії у хворих з ендометрію кістами та аденоміозом.

#### ПЕРСПЕКТИВИ ПОДАЛЬШИХ ДОСЛІДЖЕНЬ.

Вивчення імуногістохімічних особливостей рецепторного апарату та регуляторів апоптозу пухлиноподібних процесів яєчників, перспективно з'ясувати регуляцію апоптозу окремих типів клітин в цілому багатоклітинному організмі.

6. Mc. Cluggage W.G., Young R.H. Immunohistochemistry as a diagnostic aid in the evaluation of ovarian tumors // *Semin. Diagn. Pathol.* – 2005. – Vol. 22(1). – pp. 3-32

7. Makrigiannakis A., Amin K., Coukos G., Tilly J.L., Coutifaris C. Expression of progesterone receptor (PR) A and B isoforms in mouse granulosa cells: stage-dependent PR-mediated regulation of apoptosis and cell proliferation // *Biol. Reprod.* 2003. – Mar; 68(3). – pp. 914-21.

8. Shao R., Markstrom E., Friberg P.A., Johansson M. and other. Tumor necrosis factor-related apoptosis inducing ligand expression and activity in hen granulosa cells // *Reproduction.* – 2007. – Mar; 133(3). – pp. 609-616.

9. Matsuda-Minehata F., Inoue N., Goto Y., Manabe N. Control of ovarian follicular development to the gonadotropin-dependent phase: a 2006 perspective // *Soc. Reprod. Fertil. Suppl.* – 2007. – 64. – pp. 55-68.

10. McNatty K.P., Reader K., Smith P., Heath D.A., Juengel J.L. Progesterone regulation of human granulosa/luteal cell viability by an RU486-independent mechanism // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2006. – Dec; 91(12). – pp. 4962-8.