

Кошлич Ксения Александровна

**СТРУКТУРНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ МИОМЕТРИЯ ПРИ БЕРЕМЕННОСТИ И
В ПОСЛЕРОДОВЫЙ ПЕРИОД У МЫШЕЙ В УСЛОВИЯХ ОСТРОГО
ТОКСИЧЕСКОГО ГЕПАТОЗА И ПРИ ЕГО КОРРЕКЦИИ
ИММОБИЛИЗИРОВАННОЙ ГИАЛУРОНИДАЗОЙ**

3.3.2. Патологическая анатомия

Автореферат диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Новосибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, профессор

Надеев Александр Петрович

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук

Волков Александр Михайлович

(Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр имени академика Е. Н. Мешалкина» Министерства здравоохранения Российской Федерации, патологическое отделение, врач-патологоанатом)

доктор медицинских наук

Толибова Гулрухсор Хайбуллоевна

(Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д. О. Отта», отдел патоморфологии, патологоанатомическое отделение, заведующий отделом, заведующий отделением, г. Санкт-Петербург)

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (г. Челябинск)

Защита диссертации состоится «____» _____ 2024 г. в «____» часов на заседании диссертационного совета 21.2.046.05, созданного на базе федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Новосибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (630091, г. Новосибирск, Красный проспект, 52)

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке и на сайте Новосибирского государственного медицинского университета (630091, г. Новосибирск, ул. Залесского, д. 4; <https://new.ngmu.ru/dissers/get-file/4298>)

Автореферат разослан «____» _____ 2024 г.

Ученый секретарь диссертационного совета

С. В. Залавина

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность избранной темы. С каждым годом заболевания печени становятся всё более распространены среди населения. Параллельно возрастает количество беременных с печеночной патологией (García-Romero C. S., 2019; Lange M. et al., 2023). Заболевание может возникнуть как до беременности и быть самостоятельной нозологией, так и во время беременности и являться ее осложнением (Xu L., Yuan Y. et al., 2022; McNestry C., Killeen S. L. et al., 2023; Fogel R. S., Chappell C. A., 2023).

К самостоятельным заболеваниям печени можно отнести аутоиммунный гепатит, вирусные гепатиты, длительное токсическое повреждение печени при приеме лекарственных средств и алкогольной болезни, неалкогольную болезнь печени и цирроз печени, как исход хронического воспаления различной этиологии (Terrault N. A. et al, 2021; Devarbhavi H. et al., 2023).

Во время беременности возможно возникновение печеночной патологии, которая может являться осложнением (Terrault N. A., Williamson C., 2022). К таким состояниям можно отнести: острую жировую дистрофию печени беременных, HELLP-синдром, преэклампсию/эклампсию, внутрипеченочный холестаз и другие (Brady C. W., 2020; Varlas V. N. et al, 2021; Mekonnen S. et al., 2022; White S. W., 2023). Эти причины могут привести к прерыванию беременности, маточному кровотечению, преждевременным родам, нарушению инволюции матки в послеродовом периоде (Кувшинова Т. Д., 2005; Shen M., Shi H., 2015). В результате таких исходов в статистике фиксируется повышение индекса перинатальной и материнской смертности (Birkness-Gartman J.E., et al., 2022; Kulhan N. G., Orgul et al, 2024; Надеев А. П., Жукова В. А., 2024).

Исследования показывают, что печень играет ключевую роль в метаболизме половых гормонов, таких как эстроген и прогестерон, которые являются важными регуляторами репродуктивной функции женщины (Kasarinaite A., et al., 2023). Во время беременности и послеродовом периоде уровень этих гормонов значительно меняется, и печень принимает в этом активное участие, активируя и инактивируя их. Печеночная недостаточность может привести к нарушению адекватной регуляции гормонов, что потенциально влияет на процесс восстановления миометрия после родов и развитие субинволюции матки (Кувшинова Т. Д., 2005). Однако связь между процессами послеродовой инволюции миометрия и нарушением функции печени окончательно не выяснена.

В научных работах по изучению физиологической инволюции миометрия показано, что через 10 дней после однократных родов происходит полное восстановление миометрия мышцей до состояния, характерного для миометрия небеременных особей. Ключевыми механизмами восстановления являлись процессы клазмоцитоза, апоптоза и некроза миоцитов (Обединская К. С., 2010).

Иммобилизованная гиалуронидаза представляет собой фермент, связанный с инертным носителем, что позволяет увеличить продолжительность действия фермента и

снизить его токсичность, также обеспечивает более точное и контролируемое высвобождение фермента в нужном месте, что повышает эффективность лечения (Дыгай А. М. и др., 2011; Jung H., 2020).

Гепатопротективные свойства иммобилизированной гиалуронидазы обусловлены активацией ростового потенциала как печеночных резидентных клеток-предшественников, так и мигрировавших в пораженный орган стволовых клеток из костного мозга (Дыгай А. М. и др., 2012). При этом вызванные иммобилизованным ферментом изменения направлены на предотвращение истощения пула прогениторных клеток в печени, пораженной гепатотропным ядом, посредством выработки ростовых факторов интерстициальными элементами и стимуляции мобилизации стволовых клеток из гемопоэтической ткани, что способствует их прицельному хомингу в пораженный орган (Дыгай А. М. и др., 2011; Дыгай А. М. и др., 2013).

Развитие изменений в миометрии во время беременности и в послеродовом периоде, включая его инволюцию в условиях токсического гепатоза, до сих пор изучено недостаточно, и представляет значительный интерес для современной медицины и репродуктологии.

Степень разработанности темы диссертации. В научной литературе имеется большое количество данных о структурных изменениях эндометрия в послеродовом периоде в физиологических условиях (Кирсанов Я. Н., 2009; Spooner M. K. et al, 2023; Gao L., et al., 2024), в то время как данные об инволюции миометрия в условиях патологических процессов являются малочисленными (Обединская К. С., 2010; Шкурупий В. А., 2012). Структурные изменения механизмов инволюции миометрия в условиях заболеваний печени также остаются малоизученными.

Цель исследования. Исследовать структурные изменения миометрия мышей C57Bl/6 во время беременности и в процессе послеродовой инволюции матки в условиях острого токсического гепатоза и при его коррекции иммобилизированной гиалуронидазой.

Задачи исследования

1. Исследовать морфологические изменения миометрия у мышей с острым CCl₄-индуцированным гепатозом во время беременности и в послеродовый период.
2. Изучить экспрессию рецепторов эстрогенов и прогестерона в миометрии мышей линии C57Bl/6 в условиях острого CCl₄-индуцированного гепатоза во время беременности и послеродовый период.
3. Исследовать структурную организацию миометрия у мышей с острым CCl₄-индуцированным гепатозом во время беременности и послеродовый период и в условиях применения иммобилизированной гиалуронидазы.
4. Исследовать экспрессию рецепторов эстрогенов и прогестерона в миометрии мышей линии C57Bl/6 в условиях острого CCl₄-индуцированного гепатоза во время беременности и послеродовом периоде при коррекции иммобилизированной гиалуронидазой.

Научная новизна. Впервые исследованы структурные механизмы, вызывающие изменения в миометрии у мышей линии C57Bl/6 во время беременности и в послеродовой период в условиях острого CCl₄-индуцированного гепатоза, и представленные такими процессами как класмацитоз, некроз и апоптоз.

Впервые показано, что у мышей линии C57Bl/6 инволюция матки в условиях острого CCl₄-индуцированного гепатоза не завершается к 15-м суткам после родов.

Впервые установлено, что коррекция острого CCl₄-индуцированного гепатоза иммобилизированной гиалуронидазой завершает инволюцию матки к 10-м суткам (физиологический срок) после родов у мышей.

Впервые установлено, что коррекция острого CCl₄-индуцированного гепатоза иммобилизированной гиалуронидазой приравнивает соотношения компонентов структурных механизмов в миометрии (класмацитоза, апоптоза, некроза) к аналогичным у мышей с физиологически развивающейся беременностью и послеродовым периодом.

Впервые установлено, что при остром CCl₄-индуцированном гепатозе у мышей имеется повышенная экспрессия рецепторов эстрогена в миоцитах в послеродовой период, что обуславливает нарушение послеродовой инволюции матки, а применение иммобилизированной гиалуронидазы восстанавливает баланс половых гормонов (эстрогена и прогестерона) в миометрии, способствуя нормализации послеродовой инволюции матки.

Теоретическая и практическая значимость работы. Результаты исследования свидетельствуют о том, что у мышей с острым CCl₄-индуцированным гепатозом во время беременности, восстановление матки после родов замедляется и не завершается к 15-му дню послеродового периода. Основными механизмами, отвечающими за элиминацию миометрия после родов, являются в большей степени класмоцитоз, а также, в меньшей степени, апоптоз и некроз миоцитов.

Выявленные морфологические изменения открывают новые перспективы в разработке методов профилактики, коррекции осложнений у женщин, подверженных токсическому воздействию на печень во время беременности.

Применение иммобилизированной гиалуронидазы способствовало нормализации экспрессии половых гормонов, что подтверждает её потенциальную эффективность в условиях токсических повреждений печени.

Полученные данные можно использовать в преподавании курса по патологической анатомии в медицинских вузах в разделах «Патологическая анатомия заболеваний печени», «Патологическая анатомия заболеваний беременности, родов и в послеродовой период».

Методология и методы диссертационного исследования. Методологическая работа построена на принципах системного анализа комплекса данных, включавших результаты морфометрического исследования класмацитоза, апоптотически измененных и некротизированных миоцитов, полученных от самок мышей линии C57Bl/6 на 18-е и 21-е сутки

беременности, а также на 1-е, 10-е и 15-е сутки послеродового периода. В работе использовались современные иммуногистохимические, морфометрические методы исследования, применены адекватные методы статистического анализа. Дизайн исследования согласуется с принципами проведения экспериментов на лабораторных животных. Работа проводилась с соблюдением правил научных исследований и основывалась на принципах биоэтики.

Положения, выносимые на защиту

1. Основным механизмом, обеспечивающим послеродовую инволюцию миометрия мышей линии C57Bl/6, перенесших острый CCl_4 -индуцированный гепатоз, является клазмацитоз, в меньшей степени – апоптоз и некроз миоцитов, послеродовая инволюция матки не завершается к 15-м суткам после родов.

2. У животных с острым CCl_4 -индуцированным гепатозом имеется повышенная экспрессия рецепторов эстрогенов, замедляющих процесс инволюции миометрия за счет ингибирования клазмацитоза.

3. В условиях острого CCl_4 -индуцированного гепатоза при его коррекции иммобилизированной гиалуронидазой послеродовая инволюция миометрия у мышей завершается к 10-м суткам и соответствует физиологическому течению.

Степень достоверности. Все использованные методические приемы и способы статистической обработки соответствуют поставленным целям и задачам, позволяют получить доступные и достоверные анализу результаты. Диссертация выполнена на достаточном экспериментальном материале с использованием сертифицированного оборудования, современных высокоинформативных методов морфологического исследования (световая и электронная микроскопия, морфометрия, иммуногистохимическое исследование) и анализа результатов.

Апробация работы. Основные положения диссертации доложены на: 3-й Международной научно-практической конференции «Бородинские чтения» (Новосибирск, 2022); Всероссийских научно-практических конференциях с международным участием «Актуальные вопросы патологоанатомической практики» (Челябинск, 2023, 2024); Российской (итоговой) научно-практической конкурс-конференции с международным участием студентов и молодых ученых «Авиценна» (Новосибирск, 2024).

Диссертационная работа рассмотрена на заседании проблемной комиссии «Морфологические основы компенсаторно-приспособительных реакций» ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России (Новосибирск, 2024).

Диссертационная работа выполнена в соответствии с утвержденным направлением научно-исследовательской работы ФГБОУ ВО «Новосибирского государственного медицинского университета» Минздрава России по теме «Изучение закономерностей развития

нормальных и патологических процессов в организме при воздействии факторов экзо- и эндогенной природы: межклеточные и межсистемные взаимодействия при остром и хроническом воспалении, репаративной регенерации, онкогенезе, фиброзировании, дисплазии соединительной ткани; возможности диагностики, профилактики, лечения», номер государственной регистрации 121061500014-3.

Внедрение результатов исследования. Результаты диссертационного исследования внедрены в учебный процесс кафедры патологической анатомии ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России в темах «Патологическая анатомия заболеваний беременности, родов и в послеродовый период», «Патологическая анатомия заболеваний печени».

Публикации. По теме диссертации опубликованы 7 научных работ, в том числе 3 статьи в научных журналах и изданиях, включённых в перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук, из них 1 статья в журнале категории К1, входящем в список изданий, распределённых по категориям К1, К2, К3, в том числе 1 статья в журнале, входящем в международные реферативные базы данных и систем цитирования CA(pt), Scopus, Springer и Web of Science.

Объем и структура работы. Диссертация изложена на 132 страницах машинописного текста и включает в себя обзор литературных источников, детальное описание используемых материалов и методов, результаты проведённого исследования с их обсуждением, выводы, практические рекомендации, список литературы, список иллюстративного материала и приложение. Список литературы представлен 247 источниками, из которых 174 – в зарубежных изданиях. Полученные результаты проиллюстрированы с помощью 45 рисунков и 6 таблиц, оформленных как Приложение А.

Личный вклад автора. Все исследования проводились при непосредственном участии автора: анализ данных отечественной и зарубежной литературы по теме диссертационного исследования, разработка дизайна и постановка экспериментов, сбор и систематизация первичного материала, морфометрия и анализ статистической обработки полученного материала. Подготовка научных докладов, написание статей и диссертации выполнены лично автором.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование было проведено на кафедре патологической анатомии ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России.

Эксперимент выполнен на 200 самках и 50 самцах мышей линии C57Bl/6, двухмесячного возраста, массой 20–22 г. Животные были получены из лаборатории разведения экспериментальных животных Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики

Сибирского отделения Российской академии наук» (г. Новосибирск). До начала эксперимента животные проходили двухнедельный период адаптации. После адаптации животных рассаднили в пластиковые клетки со свободным доступом к воде и пище в соотношении 1 самец к 4 самкам. День начала беременности у самок фиксировали по обнаружению копулятивной пробки во влагалище.

Животные были разделены на 4 группы: первая группа – интактная группа – самки мышей линии C57Bl/6 с физиологической беременностью; вторая группа – контрольная группа – самки мышей линии C57Bl/6 с физиологической беременностью и введением иммобилизированной гиалуронидазы (ИГ) на 14-е сутки беременности; третья группа – опытная группа – беременные самки мышей линии C57Bl/6 с острым CCl_4 -индуцированным гепатозом на 13-е сутки беременности (CCl_4); четвертая группа – беременные самки мышей линии C57Bl/6 с острым CCl_4 -индуцированным гепатозом на 13-е сутки беременности и его коррекцией иммобилизированной гиалуронидазой (CCl_4 + ИГ) на 14-е сутки гестации.

Острый гепатоз моделировали на 13-й день беременности путём однократного внутривентрального введения 50 % раствора тетрахлорметана на оливковом масле в дозе 0,3 мл/кг (Миронов А. Н. и др., 2012). Коррекцию острого гепатоза начинали на следующий день (14-й день беременности) и проводили в течение 3 и 5 дней однократным внутривентральным введением препарата иммобилизированной гиалуронидазы в дозе 1 единица в сутки на мыш (всего 3 и 5 единиц). Препарат представляет собой иммобилизованную гиалуронидазу, модифицированную активированным полиэтиленоксидом с молекулярной массой 1 500 Да при помощи электронно-лучевого синтеза. Этот препарат был разработан ООО «Саентифик Фьючер Менеджмент» (Новосибирск) и НИИ фармакологии СО РАН (Томск).

Для исследования материала на светоптическом микроскопе (Nikon Eclipse 200, Япония) гистологические срезы окрашивали по стандартной методике гематоксилином и эозином (обзорная). Для количественной оценки (N_{ai}) экспрессии рецепторов прогестерона и рецепторов эстрогенов в миоцитах проводили иммуногистохимическое окрашивание срезов с использованием антител к Estrogen Receptor (клон SP1, rabbit monoclonal antibody, «Thermo scientific» USA) и Progesterone Receptor (клон PgR 636, mouse monoclonal antibody, «Dako» Дания). Для оценки явления клазмацитоза в миоцитах использовался метод электронной микроскопии (электронный микроскоп JEM 1400 (Jeol, Япония), лаборатория ультраструктурных исследований (заведующая – д-р биол. наук, профессор Бгатова Н. П.) НИИ клинической и экспериментальной лимфологии – филиал ИЦиГ СО РАН, г. Новосибирск).

При морфометрии использовали закрытую тестовую площадь 1 600 μm^2 , состоящую из 25 точек. Подсчитывали объемную плотность (V_v) апоптотически измененных миоцитов, объемную плотность (V_v) интерстициальных цитоплазматических конгломератов (ИЦК (Обединская К. С., 2010; Шкурупий В. А., 2012) и объемную плотность (V_v) некротизированных миоцитов. Дополнительную оценку апоптоза проводили подсчетом

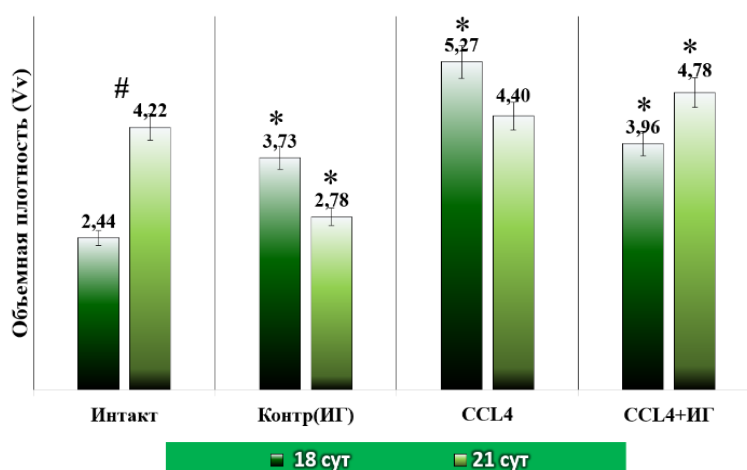
численной плотности (N_{ai}) миоцитов с положительной экспрессией белка p53 (клон DO-7, «Dako», Дания).

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием лицензионного пакета программ прикладной статистики «Microsoft Excel 365», определяли среднюю величину (M) и стандартную ошибку среднего (m). Характеристики выборок представлены как $M \pm m$. Статистическая значимость различий средних значений была определена с использованием t-критерия Стьюдента для независимых выборок при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты морфологического исследования паренхимы миометрия мышей линии C57Bl/6 в период беременности в условиях острого CCL₄-индуцированного гепатоза и при его коррекции иммобилизированной гиалуронидазой. Морфологические изменения в печени на 18-е и 21-е сутки беременности были представлены очаговыми некрозами и гидропической дистрофией гепатоцитов, наличием двуядерных гепатоцитов, синусоидальные пространства сужены, сосуды полнокровные.

У животных 1-й (интактной) группы за период с 18-х по 21-е сутки беременности объемная плотность (V_v) ИЦК в миометрии увеличивается в 1,7 раза, объемная плотность (V_v) некротизированных миоцитов увеличивается в 1,2 раза, объемная плотность (V_v) апоптотически измененных миоцитов уменьшается в 1,7 раза. Данные изменения можно связать с гормональной перестройкой организма у мышей-самок перед родами (Шкурूपий В. А., 2012).



Примечание: * – в этом рисунке и в последующих рисунках обозначены статистически значимые различия в сравнении с мышами 1-й (интактной) группой ($p < 0,05$), # – статистически значимое различие у мышей 1-й (интактной) группы в разные периоды наблюдения ($p < 0,05$).

Рисунок 1 – Объемная плотность (V_v) цитоплазматических конгломератов (клазмацитоз) в миометрии мышей линии C57Bl/6 в период беременности в условиях острого CCL₄-индуцированного гепатоза и его коррекции иммобилизированной гиалуронидазой

У мышей 2-й (контрольной) группы на 18-е сутки беременности объемная плотность (Vv) ИЦК была в 1,5 раза больше, объемная плотность (Vv) некротизированных миоцитов – в 1,5 раза меньше, объемная плотность (Vv) апоптотически измененных миоцитов – в 1,2 раза меньше по сравнению с мышами 1-й (интактной) группы. На 21-е сутки беременности у мышей 2-й (контрольной) группы объемная плотность (Vv) ИЦК уменьшилось в 1,5 раза, объемная плотность (Vv) некротизированных миоцитов – на 2,6 %, а объемная плотность (Vv) апоптотически измененных миоцитов – в 1,8 раза по сравнению с аналогичным показателем у мышей 1-й (интактной) группы (см. рисунок 1).

В условиях острого CCl₄-индуцированного гепатоза (3-я группа) в матке у самок на 18-е сутки беременности наблюдались большое количество ИЦК и очаги некротизированных миоцитов (Рисунок 2). В 21-е сутки беременности при остром CCl₄-индуцированном гепатозе в матке у мышей 3-й (CCl₄) группы объемная плотность (Vv) ИЦК и некротизированных миоцитов уменьшалась на 33 % и 16,5 % соответственно. На 21-е сутки гестации наблюдали противоположную тенденцию по сравнению с мышами 1-й (интактной) группы: снижение ИЦК и некротизированных миоцитов, что говорит о значительных перестройках в миометрии уже на этапе беременности с возможными последующими нарушениями в процессах послеродовой инволюции.

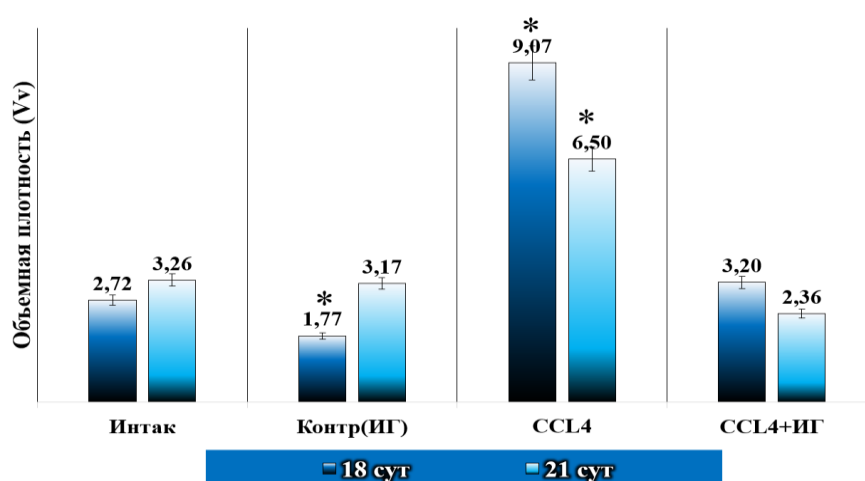


Рисунок 2 – Объемная плотность (Vv) некротизированных миоцитов в миометрии мышей линии C57Bl/6 во время беременности в условиях острого CCl₄-индуцированного гепатоза и его коррекции иммобилизированной гиалуронидазой

У самок 4-й (CCl₄ + ИГ) группы по сравнению с мышами 1-й (интактной) группы произошло возрастание объемной плотности (Vv) ИЦК на 18-е сутки беременности в 1,6 раза, увеличилась объемная плотность (Vv) некротизированных миоцитов в 1,2 раза, а объемная плотность (Vv) апоптотически измененных миоцитов уменьшилась в 1,7 раза (Рисунок 3). На 21-е сутки беременности у мышей 4-й (CCl₄ + ИГ) группы по сравнению с мышами

1-й (интактной) группы объемная плотность (V_v) ИЦК увеличилась на 13 %, а объемная плотность (V_v) некротизированных миоцитов уменьшилась на 27 %. Объемная плотность (V_v) апоптотически измененных миоцитов уменьшилась в 5,75 раза по сравнению с животными 1-й (интактной) группой.

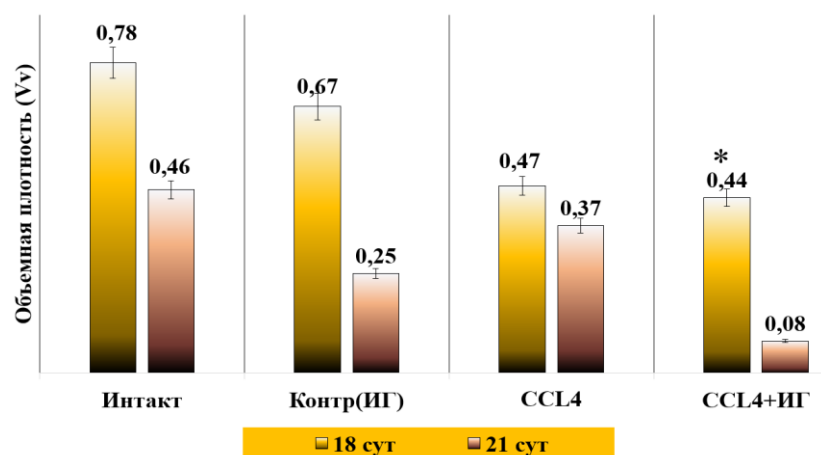


Рисунок 3 – Объемная плотность (V_v) апоптотически измененных миоцитов в миометрии мышей линии C57Bl/6 в период беременности в условиях острого CCL₄-индуцированного гепатоза и его коррекции иммобилизированной гиалуронидазой

Результаты морфологического исследования паренхимы миометрии мышей линии C57Bl/6 в послеродовом периоде в условиях острого CCL₄-индуцированного гепатоза и при его коррекции иммобилизированной гиалуронидазой. При остром CCL₄-индуцированном гепатозе в печени у мышей на 1-е сутки послеродового периода наблюдались очаги некрозов гепатоцитов, а также гепатоциты в состоянии вакуольной дистрофии. На 10-е сутки послеродового периода при остром CCL₄-индуцированном гепатозе в печени у мышей обнаруживали очаги микронекрозов гепатоцитов, преимущественно вакуольную дистрофию гепатоцитов, большое количество двуядерных гепатоцитов, что свидетельствовало о регенеративных процессах в печени.

У животных 1-й (интактной) группы объемные плотности (V_v) продуктов клазмацитоза (ИЦК), апоптотически измененных миоцитов и некротизированных миоцитов снижались к 10-м суткам, завершая инволюцию матки. У мышей 2-й (контрольной) группы тенденция сохраняется, как и у животных 1-й (интактной) группы, а именно снижение показателей к 10-м суткам послеродового периода (Рисунки 4, 5 и 6). У животных с CCL₄-индуцированным гепатозом (3-я группа) на 1-е сутки послеродового периода объемная плотность (V_v) ИЦК была в 1,7 раза меньше по сравнению с мышами 1-й (интактной) группы, объемная плотность (V_v) некротизированных миоцитов была аналогична показателям мышей 1-й (интактной) группы, а показатель объемной плотности (V_v) апоптотически измененных миоцитов не имел статистически значимых различий с мышами 1-й (интактной) группы. В 15-е сутки у животных

3-й (CCl₄) группы в послеродовом периоде объемная плотность (Vv) ИЦК больше в 2,7 раза, объемная плотность (Vv) некротизированных миоцитов – в 16,75 раза, а объемная плотность (Vv) апоптотически измененных миоцитов – на 30 % по сравнению с аналогичным показателем у мышей 1-й (интактной) группы (Рисунок 5).

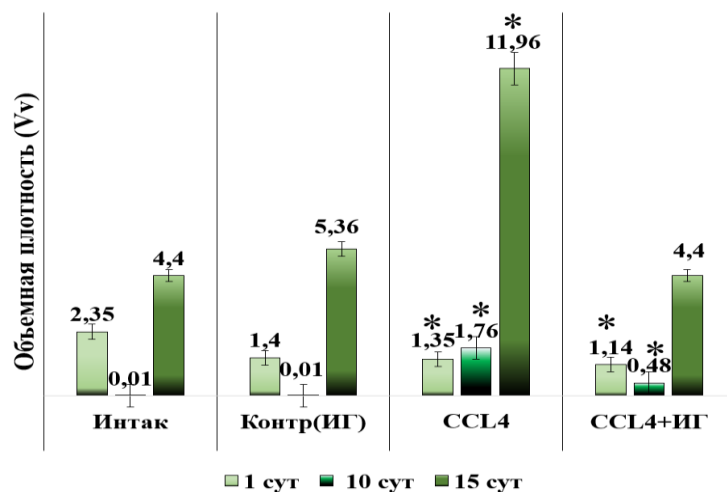


Рисунок 4 – Объемная плотность (Vv) интерстициальных цитоплазматических конгломератов (продукты клазмацитоза) в миометрии мышей линии C57Bl/6 в послеродовом периоде в условиях острого CCl₄-индуцированного гепатоза и его коррекции иммобилизированной гиалуронидазой

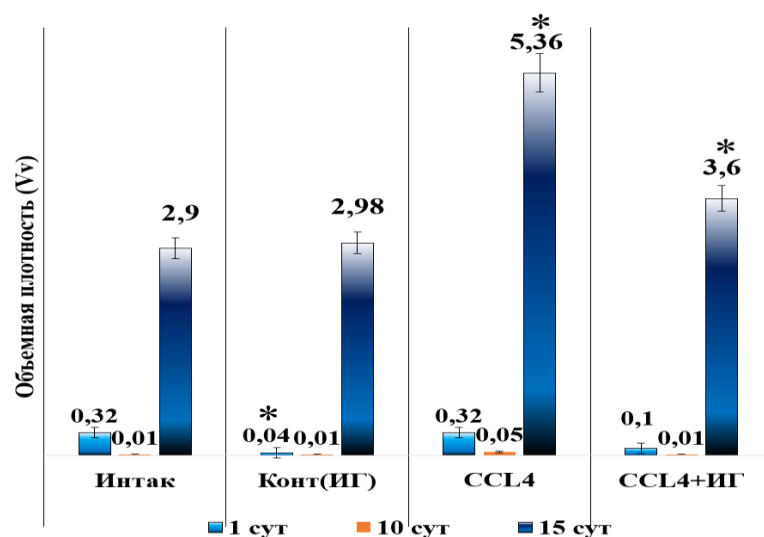


Рисунок 5 – Объемная плотность (Vv) некротизированных миоцитов в миометрии мышей линии C57Bl/6 в послеродовом периоде в условиях острого CCl₄-индуцированного гепатоза и его коррекции иммобилизированной гиалуронидазой

При электронно-микроскопическом исследовании миометрия у мышей 3-й (CCl₄) группы

в гипертрофированных гладких миоцитах выявляли отшнуровку части цитоплазмы, содержащей органеллы, а также зафиксировали продукты клазмацитоза – интерстициальные цитоплазматические конгломераты.

У мышей с коррекцией CCl₄-индуцированного гепатоза иммобилизированной гиалуронидазой (4-я группа) на 1-е сутки послеродового периода объемная плотность (Vv) ИЦК в 2,1 раза меньше по сравнению с мышами 1-й (интактной) группы, объемная плотность (Vv) некротизированных миоцитов меньше в 3,2 раза, а объемная плотность (Vv) апоптотически измененных миоцитов была больше на 13,5 % по сравнению с показателями мышей 1-й (интактной) группы. В 15-е сутки у мышей 4-й (CCl₄ + ИГ) группы послеродового периода объемная плотность (Vv) ИЦК больше на 2,2 %, объемная плотность (Vv) некротизированных миоцитов – на 18,2 %, а объемная плотность (Vv) апоптотически измененных миоцитов – на 12,5 % по сравнению с показателем мышей 1-й (интактной) группы. Показатель объемной плотности (Vv) у мышей 1-й интактной группы и у мышей 4-й (CCl₄ + ИГ) группы в послеродовый период не имели статистически значимых различий.

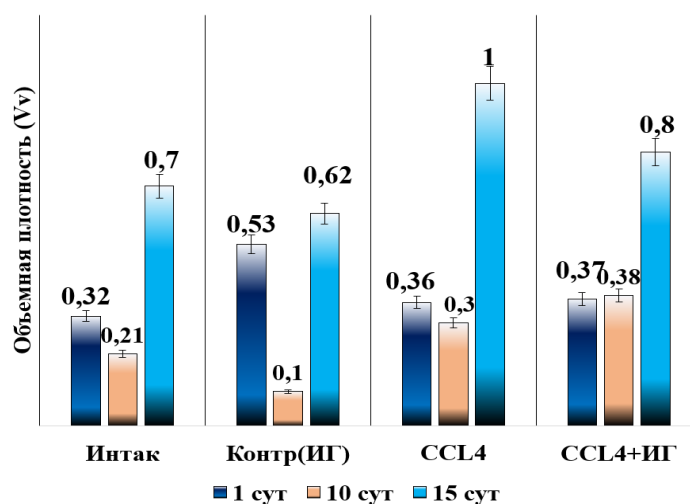


Рисунок 6 – Объемная плотность (Vv) апоптотически измененных миоцитов в миометрии мышей линии C57Bl/6 в послеродовый период в условиях острого CCl₄-индуцированного гепатоза и при коррекции иммобилизированной гиалуронидазой

Известно, что у мышей к 10-м суткам послеродового периода процессы инволюции миометрия полностью завершаются (Шкурूपий В. А., 2012), что подтверждается нашими результатами: у мышей (1-я группа) с физиологической беременностью на 10-е сутки после родов отсутствовали ИЦК, некротизированные миоциты, а уровень апоптотически измененных миоцитов был незначительным. Однако при остром CCl₄-индуцированном гепатозе на 10-е сутки определялись ИЦК и апоптотически измененные миоциты, что говорит о продолжающихся процессах инволюции миометрия.

Нарушение функции печени приводит к увеличению уровня половых стероидных гормонов, поскольку нарушен нормальный метаболизм эстрогена и прогестерона, и их инактивации. Известно, что высокий уровень эстрогенов может стимулировать апоптоз (Lei X. et al., 2016; Wu J. et al., 2019), а высокий уровень прогестерона, наоборот, ингибирует апоптоз (Wang Y. et al., 2018).

Учитывая полученные нами данные об отсутствии различий в показателе объемной плотности (V_v) апоптотически измененных миоцитов у мышей всех групп в послеродовой период, можно сделать вывод, что данный механизм не является ключевым в процессах послеродовой инволюции (Рисунок 6).

Результаты исследования численной плотности положительной экспрессии p53 в миометрии мышей линии C57Bl/6 в период беременности в условиях острого CCL₄-индуцированного гепатоза и его коррекции иммобилизированной гиалуронидазой. При сравнении показателей численной плотности (N_{ai}) с положительной экспрессией p53 в миоцитах во время беременности у мышей 1-й (интактной) группы от 18-х к 21-м суткам отмечали, что происходит уменьшение показателя на 25 %. Аналогичная тенденция снижения численной плотности (N_{ai}) миоцитов с экспрессией p53 от 18-х к 21-м суткам беременности отмечается у мышей 2-й (контрольной) и мышей 4-й (CCL₄ + ИГ) групп на 10,2 %, и 25 % соответственно. У мышей 2-й (контрольной) группы на 18-е сутки беременности показатели численной плотности (N_{ai}) положительной экспрессии белка p53 в миоцитах на 15,8 % меньше, чем аналогичный показатель у мышей 1-й (интактной) группы, а на 21-е сутки беременности разница у мышей этих двух групп не имела статистически значимых различий (Рисунок 7).

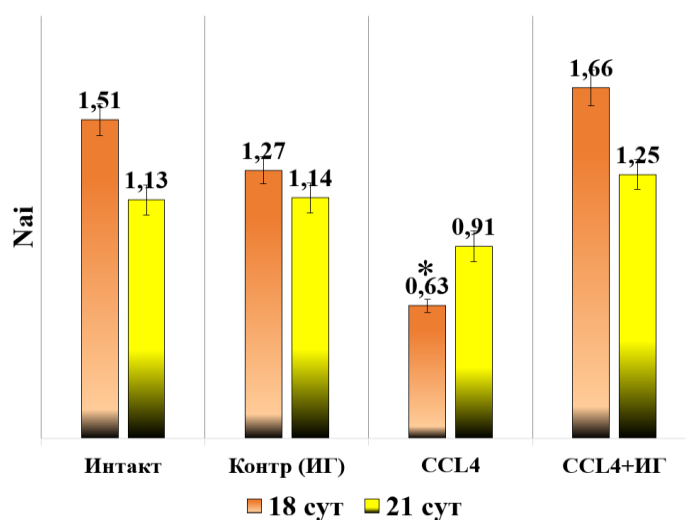


Рисунок 7 – Результаты исследования численной плотности (N_{ai}) экспрессии p53 в миометрии мышей линии C57Bl/6 в период беременности в условиях острого CCL₄-индуцированного гепатоза и его коррекции иммобилизированной гиалуронидазой

У мышей 3-й (CCl₄) группы наблюдается обратная тенденция – от 18-х к 21-м суткам беременности показатели численной плотности (N_{ai}) экспрессии белка p53 в миоцитах возрастают на 44 % (см. рисунок 7). Численная плотность (N_{ai}) положительной экспрессии белка p53 в миоцитах у мышей 3-й (CCl₄) группы на 18-е сутки беременности меньше в 2,4 раза, а на 21-е сутки беременности – в 1,2 раза по сравнению с аналогичными показателями у животных 1-й (интактной) группы в эти же периоды наблюдения. У мышей 4-й (CCl₄ + ИГ) группы в 18-е сутки беременности показатель численной плотности (N_{ai}) положительной экспрессии белка p53 в миоцитах не имела статистически значимых различий по сравнению с мышами 1-й (интактной) группы.

Результаты численной плотности положительной экспрессии p53 в миометрии мышей линии C57Bl/6 в послеродовой период в условиях острого CCl₄-индуцированного гепатоза и его коррекции иммобилизированной гиалуронидазой. При сравнении численной плотности (N_{ai}) положительной экспрессии белка p53 в миоцитах в послеродовой период в миометрии мышей 1-й (интактной) группы от 1-х к 15-м суткам послеродового периода отмечается повышение показателя: от 1-х к 10-м суткам он возрастает на 18 %, а с 10-х по 15-е сутки – на 48,6 %. Тенденция к возрастанию этого показателя от 1-х к 15-м суткам сохраняется у мышей 2-й (контрольной) и у мышей 4-й (CCl₄ + ИГ) групп: у мышей 2-й группы увеличение показателей от 1-х к 10-м суткам послеродового периода было 3-кратным, с 10-х по 15-е сутки послеродового периода – 57,8 %. У мышей 4-й (CCl₄ + ИГ) группы от 1-х к 10-м суткам послеродового периода возрастание численной плотности (N_{ai}) положительной экспрессии белка p53 в миоцитах составило 57 %, а с 10-х по 15-е сутки послеродового периода – 89%.

У мышей 2-й (контрольной) группы в 1-е сутки послеродового периода численная плотность (N_{ai}) положительной экспрессии белка p53 в миоцитах на 53 % меньше, чем аналогичные показатели у мышей 1-й (интактной) группы, на 10-е сутки послеродового периода показатель становится большим, чем у мышей 1-й группы в аналогичный период наблюдения, на 16,9 %, а на 15-е сутки послеродового периода у мышей 2-й (контрольной) группы показатели больше на 25,9 % по сравнению с показателями мышей 1-й (интактной) группы в аналогичный период наблюдения (Рисунок 8).

У животных 3-й (CCl₄) группы в 1-е сутки послеродового периода численная плотность положительной (N_{ai}) экспрессии белка p53 в миоцитах больше на 15 % по сравнению с аналогичным показателем у мышей 1-й (интактной) группы в аналогичный период наблюдения. В 10-е сутки послеродового периода у мышей 3-й (CCl₄) группы показатели меньше на 32,5 % по сравнению с аналогичным показателем у мышей 1-й (интактной) группы в этот срок наблюдения. На 15-е сутки показатель у мышей 3-й (CCl₄) группы меньше на 5,7 % по сравнению с мышами 1-й (интактной) группы, разница показателей не является статистически значимой.

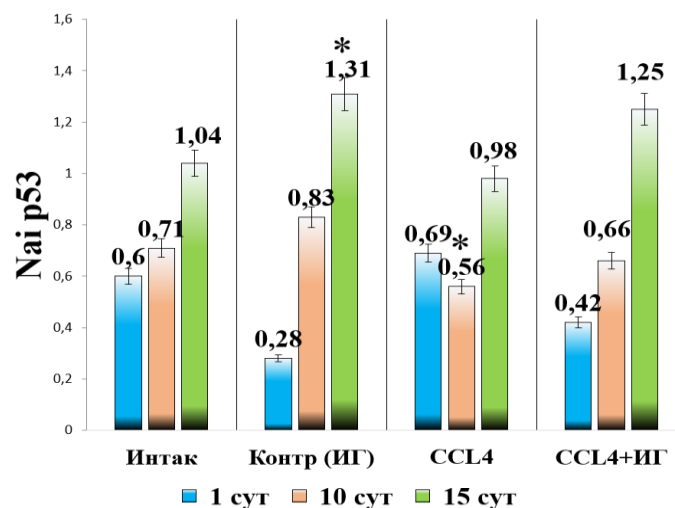


Рисунок 8 – Результаты численной плотности положительной экспрессии p53 в миометрии мышей линии C57Bl/6 в послеродовой период в условиях острого CCl₄-индуцированного гепатоза и его коррекции иммобилизированной гиалуронидазой

У мышей 4-й (CCl₄ + ИГ) группы, как и у мышей 1-й (интактной) группы, численная плотность (N_{ai}) положительной экспрессии белка p53 в миоцитах имеет тенденцию к возрастанию от 1-х к 15-м суткам. В 1-е сутки послеродового периода у животных 4-й (CCl₄ + ИГ) группы показатель меньше на 30 %, чем у мышей 1-й (интактной) группы в тот же срок. На 10-е сутки послеродового периода у мышей 4-й (CCl₄ + ИГ) группы численная плотность (N_{ai}) положительной экспрессии белка p53 в миоцитах меньше на 7 % по сравнению с показателем у мышей 1-й (интактной) группы в аналогичный период. На 15-е сутки показатель у мышей 4-й (CCl₄ + ИГ) группы был на 20 % больше по сравнению с показателями у мышей 1-й (интактной) группы.

Результаты исследования экспрессии рецепторов эстрогенов и прогестерона в миометрии мышей линии C57Bl/6 во время беременности в условиях острого CCl₄-индуцированного гепатоза и при его коррекции. При сравнении показателей экспрессии рецепторов эстрогена и прогестерона в 18-е и 21-е сутки беременности между мышами 1-й (интактной) и 3-й групп (CCl₄) было выявлено, что различия отсутствуют, экспрессия половых гормонов сохраняется на одинаковом уровне у мышей в обеих группах. На 21-е сутки беременности численная плотность (N_{ai}) миоцитов с экспрессией рецепторов к эстрогену у мышей 4-й (CCl₄ + ИГ) группы была меньше в 3,4 раза, а рецепторов прогестерона – в 3,9 раза, в сравнении с аналогичным показателем у мышей 3-й (CCl₄) группы (Рисунок 9).

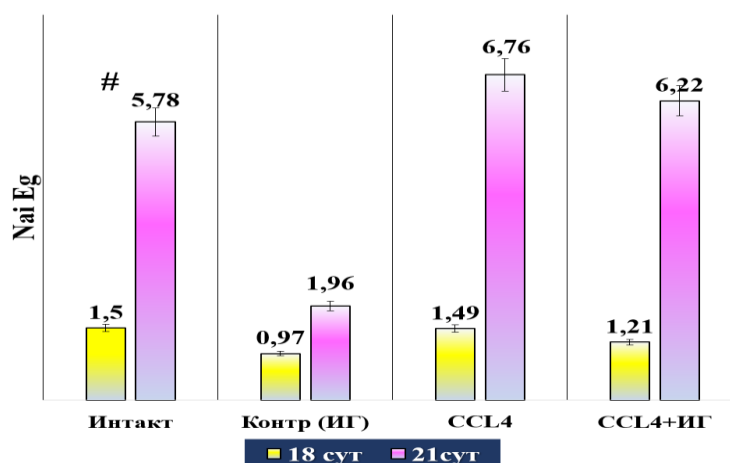


Рисунок 9 – Численная плотность (N_{ai}) экспрессии рецепторов эстрогена в период беременности в миометрии мышей линии C57Bl/6 с острым CCL₄-индуцированным гепатозом и его коррекции иммобилизированной гиалуронидазой

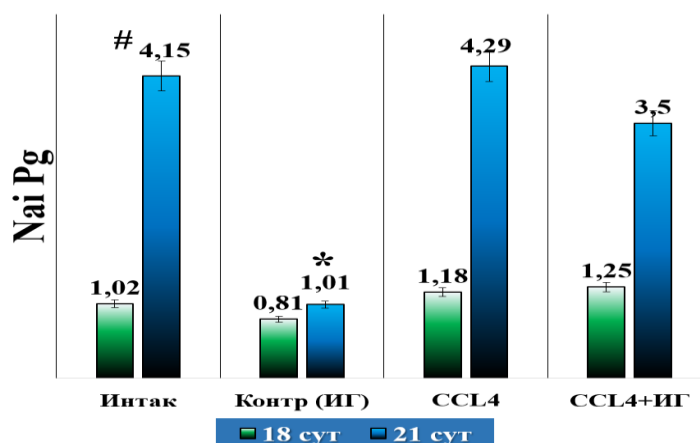


Рисунок 10 – Численная плотность (N_{ai}) миоцитов с экспрессии рецепторов прогестерона в период беременности в миометрии мышей линии C57Bl/6 с острым CCL₄-индуцированным гепатозом и его коррекции иммобилизированной гиалуронидазой

На 18-е сутки беременности количество миоцитов с положительной экспрессией прогестерона было меньшим у мышей 2-й (ИГ) группы в сравнении с аналогичным показателем у мышей 3-й (CCL₄) и 4-й (CCL₄ + ИГ) групп в 1,5 раза; на 21-е сутки беременности количество миоцитов с положительной экспрессией прогестерона у животных 2-й (ИГ) группы было также уменьшенным в сравнении с аналогичным показателем у мышей 1-й (интактной), 3-й (CCL₄) и 4-й (CCL₄ + ИГ) групп в 4,0 раза, в 4,2 раза, 3,5 раза соответственно (см. рисунок 10).

Результаты исследования экспрессии рецепторов эстрогенов и прогестерона в миометрии мышей линии C57Bl/6 в послеродовом периоде в условиях острого CCL₄-индуцированного гепатоза. При проведении иммуногистохимического исследования

было обнаружено яркое окрашивание ядер, указывающее на наличие рецепторов к эстрогену и прогестерону во всех слоях миометрия, при этом интенсивность окраски различалась.

В послеродовой период результаты морфометрического исследования миоцитов с экспрессией половых гормонов в миоцитах показали, что у мышей 3-й (CCl₄) группы в сравнении с животными 1-й (интактной) группы в динамике происходит резкое увеличение количества миоцитов, экспрессирующих рецепторы эстрогена: в 1-е сутки после родов количество миоцитов с экспрессией рецепторов к эстрогену становится в 5,5 раз больше, к 10-м суткам – в 2,8 раза; к 15-м суткам после родов – в 1,7 раза. У мышей 4-й (CCl₄ + ИГ) группы численная плотность (N_{ai}) миоцитов с положительной экспрессией эстрогенов была меньшей в сравнении с аналогичным показателем у мышей 3-й (CCl₄) группы на 1-е сутки послеродового периода в 1,7 раза, на 10-е сутки – в 1,9 раза; в сравнении с аналогичным показателем у мышей 1-й (интактной) группы на 1-е сутки послеродового периода была больше в 3 раза, на 10-е сутки – в 1,5 раза, а на 15-е сутки – в 1,7 раза, что являлось наибольшим показателем из исследованных суток (Рисунок 11).

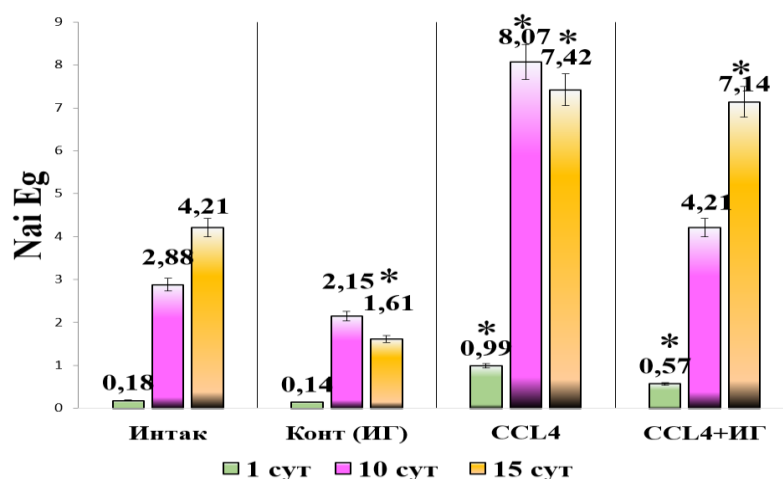


Рисунок 11 – Численная плотность (N_{ai}) экспрессии рецепторов эстрогена в послеродовой период в миометрии мышей линии C57Bl/6 с острым CCl₄-индуцированным гепатозом и его коррекции иммобилизированной гиалуронидазой

Экспрессия рецепторов прогестерона в миоцитах у мышей 3-й (CCl₄) группы не имеет различий с аналогичным показателем у животных 1-й (интактной) группы, что доказывает, что основные нарушения послеродовой инволюции миометрия мышей обусловлены гиперэстрогемией (Рисунок 12). У животных 4-й (CCl₄ + ИГ) группы численная плотность (N_{ai}) миоцитов, экспрессирующих рецепторы прогестерона, на 1-е сутки послеродового периода была меньше в 1,2 раза в сравнении с аналогичным показателем у мышей 3-й (CCl₄) группы. У мышей 2-й (контрольной) группы численная плотность (N_{ai}) миоцитов, экспрессирующих рецепторы прогестерона, была меньше в сравнении с аналогичным показателем у мышей

1-й (интактной), 3-й (CCl₄), 4-й (CCl₄ + ИГ) групп на 10-е сутки и 15-е сутки послеродового периода (Рисунок 12).

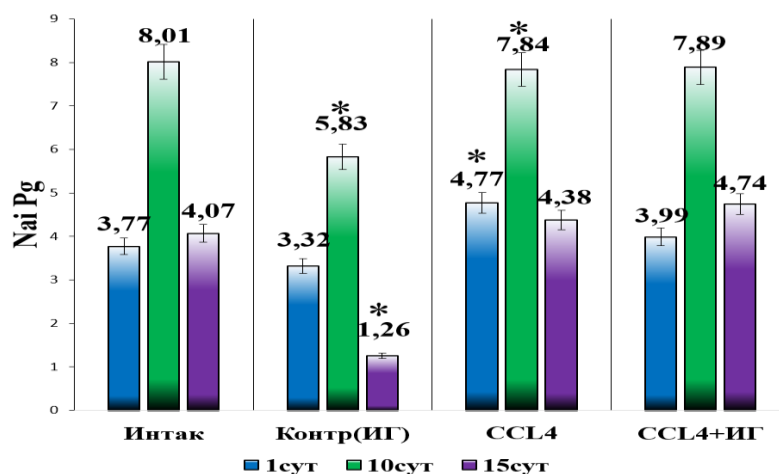


Рисунок 12 – Численная плотность (N_{ai}) миоцитов с экспрессией рецепторов прогестерона в послеродовый период у мышей линии C57Bl/6 с острым CCl₄-индуцированным гепатозом и его коррекции иммобилизированной гиалуронидазой

Нарушения функции печени могут вызывать нарушения в метаболизме половых гормонов за счет ингибирования инактивации эстрогена, повышения его уровня в крови (Довжикова И. В., Андриевская И. А., 2019). Данные исследований свидетельствуют о том, что значительное повышение уровня ядерных рецепторов к эстрогенам может быть связано с гиперэстрогенией, появляющейся вследствие нарушенной функции печени.

Согласно нашим исследованиям, у мышей 3-й группы количество ядерных рецепторов к прогестерону оказался выше, чем у мышей в 1-й (интактной) группе.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В период беременности, непосредственно перед родами (18-е и 21-е сутки беременности), наличие ИЦК (продукты клазмацитоза) в миометрии у мышей всех групп доказывает, что инволютивные процессы миометрия начинаются заранее.

Элиминация миоцитов начиналась за несколько суток до родов, а распределение рецепторов эстрогена и прогестерона в миоцитах миометрия у мышей всех групп на 18-е и 21-е сутки беременности оставалось аналогичным показателю мышей с физиологически протекающей беременностью.

С момента родов (1-е сутки) у мышей с острым CCl₄-индуцированным гепатозом возрастание объемной плотности (V_v) ИЦК происходило вплоть до 15-х суток послеродового периода, в то время как у мышей с физиологически протекающей беременностью процесс клазмацитоза завершался к 10-м суткам после родов, что является признаком окончания процессов инволюции. При физиологически протекающей беременности наиболее ярко

выраженные процессы класмацитоза, апоптоза и некроза отмечались в первые дни после родов, в то время как у мышей с острым CCl_4 -индуцированным гепатозом эти проявления были наиболее выраженные к 15-м суткам после родов, что говорит о замедлении процессов инволюции при патологии печени. В условиях коррекции иммобилизированной гиалуронидазой у мышей острого CCl_4 -индуцированного гепатоза показатели объемной плотности (V_v) ИЦК к 15-м суткам послеродового периода были аналогичными с таковым у мышей интактной группы, что говорит о завершении процессов инволюции матки.

В послеродовой период у мышей с острым CCl_4 -индуцированным гепатозом численная плотность (N_{ai}) миоцитов с экспрессией рецепторов эстрогена в миометрии на 10-е сутки была большей в 2,8 раза, по сравнению с аналогичным показателем у мышей 1-й (интактной) группы.

При применении иммобилизированной гиалуронидазы у мышей с острым CCl_4 -индуцированным гепатозом (4-я группа) численная плотность (N_{ai}) миоцитов с экспрессией рецепторов эстрогена в миометрии на 10-е сутки была в 2 раза меньше по сравнению с показателями мышей 3-й (CCl_4) группы. В связи с этим, можно предположить, что нарушение функции печени во время беременности приводит к повышенному содержанию половых стероидных гормонов в крови, которые в свою очередь, можно рассматривать как фактор, обуславливающий замедление механизмов элиминации гладкомышечных клеток, усиление экспрессии рецепторов эстрогена гладкомышечными клетками миометрия и ингибирование процессов восстановления.

ВЫВОДЫ

1. При остром CCl_4 -индуцированном гепатозе к 18-м суткам беременности в миометрии объемная плотность (V_v) класмацитоза возрастала в 2,1 раза, некротизированных миоцитов – в 3,3 раза ($p < 0,05$), по сравнению с аналогичными показателями у мышей с физиологической беременностью.

2. Основным структурным механизмом процесса послеродовой инволюции миометрия у мышей линии C57Bl/6 в условиях острого CCl_4 -индуцированного гепатоза явились класмацитоз, который морфологически был представлен наличием в интерстиции цитоплазматических конгломератов (65 %), в меньшей степени – некротизированными (29 %) и апоптотически измененными миоцитами (6 %), и инволюция матки не завершалась к 15-м суткам после родов по сравнению с мышами с физиологической беременностью.

3. При коррекции острого CCl_4 -индуцированного гепатоза иммобилизированной гиалуронидазой на 21-е сутки беременности объемная плотность (V_v) некротизированных миоцитов уменьшалась в 2,8 раза ($p < 0,05$) по сравнению с мышами без применения препарата.

4. Во время беременности количество рецепторов прогестерона и эстрогена в миометрии при остром CCl_4 -индуцированном гепатозе при коррекции иммобилизированной гиалуронидазой не изменялось и соответствовало показателям у мышей с физиологической беременностью.

5. Коррекция иммобилизированной гиалуронидазой острого CCl_4 -индуцированного гепатоза приводила к снижению объемной плотности (V_v) клазмацитоза и некротизированных миоцитов и от 1-х к 15-м суткам после родов, что соответствовало физиологической послеродовой инволюции у мышей.

6. При остром CCl_4 -индуцированном гепатозе у мышей количество рецепторов эстрогена в миоцитах увеличивалось на 10-е сутки в 2,8 раза, на 15-е сутки – в 1,7 раза ($p < 0,05$) в сравнении с мышами с физиологическим послеродовым периодом, что сопровождалось нарушением и замедлением послеродовой инволюции матки. При применении иммобилизированной гиалуронидазы у мышей с острым CCl_4 -индуцированным гепатозом количество рецепторов эстрогенов в миометрии уменьшалось к 10-м суткам послеродового периода в 2 раза ($p < 0,05$) в сравнении с мышами без применения иммобилизированной гиалуронидазы.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Полученные результаты исследования послеродовой инволюции матки у животных с острым CCl_4 -индуцированным гепатозом могут быть полезны для понимания механизмов развития и осложнений во время беременности и послеродового периода у пациенток с патологией печени.

2. Иммобилизированная гиалуронидаза может быть рекомендована для разработки профилактических мероприятий по снижению риска осложнений во время беременности и в послеродовом периоде, связанных с патологией печени у пациенток.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Послеродовая инволюция миометрия мышей при остром CCl_4 -индуцированном гепатозе и его коррекции иммобилизированной гиалуронидазой / А. П. Надеев, П. Г. Мадонов, Е. В. Поротникова [и др., в том числе **К. А. Кошлич**] // **Бюллетень экспериментальной биологии и медицины**. – 2022. – № 173 (2). – С. 246–251.

2. Морфологическое исследование экспрессии эстрогена и прогестерона в миометрии мышей во время беременности и позднем послеродовом периоде при остром токсическом гепатозе и в условиях коррекции иммобилизированной гиалуронидазой / **К. А. Кошлич**, А. П. Надеев, П. Г. Мадонов [и др.] // **Journal of Siberian Medical Sciences**. – 2024. – № 8 (3). – С. 62–76.

3. Морфологические изменения миометрия при беременности и в отдаленном послеродовом периоде в условиях острого токсического гепатоза и коррекции иммобилизированной гиалуронидазой у мышей / **К. А. Кошлич**, А. П. Надеев, С. В. Позднякова [и др.] // **Сибирский медицинский вестник**. – 2024. – № 8 (3). – С. 88–95.

4. **Кошлич, К. А.** Морфологические изменения миометрия при беременности в условиях острого токсического гепатоза и коррекции иммобилизированной гиалуронидазой у

мышей / **К. А. Кошлич** // Материалы XV Российской (итоговой) научно-практической конференции с международным участием студентов и молодых ученых «Авиценна-2024» – Новосибирск : ИПЦ НГМУ, 2024. – Т. 2. – С. 71–73.

5. Роль клазмоцитоза при беременности и послеродовой инволюции матки мышей при остром токсическом гепатозе и его коррекции иммобилизированной гиалуронидазой // Материалы VII Всероссийской научной-практической конференции с международным участием «Актуальные вопросы патологоанатомической практики» / А. П. Надеев, **К. А. Кошлич**, Н. П. Бгатова, П. Г. Мадонов ; под ред. проф. Е. Л. Казачкова. – Челябинск : Издательство Южно-Уральского государственного медицинского университета, 2023. – С. 93–98.

6. Апоптоз в механизмах послеродовой инволюции миометрия мышей при остром СС14-индуцированном гепатозе и его коррекции иммобилизированной гиалуронидазой / А. П. Надеев, С. В. Позднякова, **К. А. Кошлич** [и др.] // Материалы III Международной науч.-практ. конф. «Бородинские чтения». – Новосибирск, 2022. – С. 334–343.

7. Исследование морфологических изменений миометрия в позднем послеродовом периоде в условиях острого токсического гепатоза и коррекции иммобилизированной гиалуронидазой у мышей / **К. А. Кошлич**, А. П. Надеев, С. В. Позднякова [и др.] // Материалы VIII Всероссийской научной-практической конференции с международным участием «Актуальные вопросы патологоанатомической практики» / под редакцией профессора Е. Л. Казачкова. – Челябинск : Титул, 2024. – С. 116–120.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

ИЦК – интерстициальные плазматические конгломераты