

І. М. Моїсєєв¹, *д-р мед. наук., проф.*,
 А. П. Левицький², *чл.-кор. УААН, д-р біол. наук., проф.*,
 О. Л. Холодкова¹, *канд. мед. наук, доц.*,
 А. Б. Македон²,
 Д. М. Пихтєєв¹

МОРФОЛОГІЧНІ ЗМІНИ ЕНДО- І МІОМЕТРІЯ ЩУРІВ ПІСЛЯ ОВАРІОЕКТОМІЇ ТА ВВЕДЕННЯ ЕКСО

¹Одеський державний медичний університет

²Інститут стоматології АМН України

Останнім часом біофлавоноїди (БФ) стали об'єктом пильної уваги як своєрідні регулятори фізіологічних функцій [1; 2]. Серед БФ найбільший інтерес викликають ізофлавонони, які мають естрогенний, антиоксидантний, остеогенний, протизапальний і адаптогенний ефекти [3–7]. Препарат ізофлавононів, що його отримано з бобів сої (ЕКСО), був розроблений у результаті спільних досліджень Інституту стоматології та НВА «Одеська біотехнологія» [8]. Він набув свого практичного застосування для лікування та профілактики деяких захворювань [9–11]. Однак механізм лікувально-профілактичної дії препарату ЕКСО залишається значною мірою нерозкритим. Тому метою нашого дослідження стало вивчення за допомогою морфологічних методів стану клітин ендо- і міометрія щурів після проведення оваріоектомії та введення препарату ЕКСО.

Матеріали та методи дослідження

Дослідження проведені на трьох групах білих щурів масою 200 г. Група I складалася з інтактних тварин; II і III — зазнали операції двобічної оваріоектомії. Тваринам III групи, починаючи з другого дня, впродовж 30 діб щодня вводили ЕКСО дозою 300 мг/кг. Після закінчення дослідів у щурів витягали матку, фіксували у формаліні, занурювали в парафін, готували зрізи та за-

барвлювали їх гематоксилином і еозином та пікрофуксином за ван Гізоном [12]. Нуклеїнові кислоти (НК) виявляли гістохімічно за Ейнарсоном [13]. У зрізах визначали середню товщину стінки матки з використанням шкали окулярного мікрометра при збільшенні 7x8. Покривний епітелій та епітелій залоз ендометрія вивчали стереометрично за допомогою окулярної тест-системи при збільшенні 20x90 [14]. Загальний об'єм клітин визначали за середньою кількістю крапок, сумісних із зображенням останніх. Після підрахунку загальної кількості клітин на площі, лімітованій тест-системою, обчислювали середній об'єм епітеліоцита, його цитоплазми та ядра. За допомогою малювального апарата забарвлювали профілі поперечного перетину міоцитів при збільшенні 15x40, потім на малюнок накладали тест-систему з прозорого матеріалу і виявляли площу профілю перетину міоцита та його ядра. Результати вимірювань обраховували в умовних одиницях. Підрахунок кількості мітозів проводили в клітинах покривного епітелію. Мітотичний індекс (МІ) обчислювали, виходячи з загальної кількості підрахованих клітин, а його величину виражали в проміле.

Результати дослідження та їх обговорення

У щурів інтактної групи матка була побудована за звичайним типом. Ендометрій

складався з епітелію циліндричної форми з вільчастими та секреторними клітинами і строми. Окремі епітеліальні клітини поділялися мітотично. Ядра епітеліоцитів характеризувалися вертикальною орієнтацією і добре вираженим рисунком хроматину, траплялися також клітини з щільними ядрами. Строма ендометрія складалася з дрібних веретеноподібних сполучнотканинних клітин. Залози ендометрія мали трубчасту форму і склалися з циліндричного епітелію. Гістохімічне дослідження показало, що нуклеїнові кислоти виявляються в ядрах, ядерцях та цитоплазмі покривних епітеліоцитів, залозистих та стромальних клітинах. Міометрій складався з міоцитів, що мають звичну форму і будову.

У групі щурів після оваріоектомії середня товщина стінки матки зменшилася на 18 %, $P < 0,01$ (рисунк, 1, а). В покривному епітелії ендометрія спостерігалися порушення структури у вигляді атипового розташування клітин, зменшення їх висоти і поліморфізму ядер. Форма клітин варіювала від низькоциліндричної до кубічної, ядра були порівняно щільними, деякі підлягали пікнозу. Разом з тим, частина епітеліоцитів зберігала форму й ознаки будови таких, як у ендометрії інтактних щурів. Клітини, що поділялися шляхом мітозу, траплялися дуже рідко. Меншим майже втричі став МІ (табл. 1). Гістохімічно, навіть

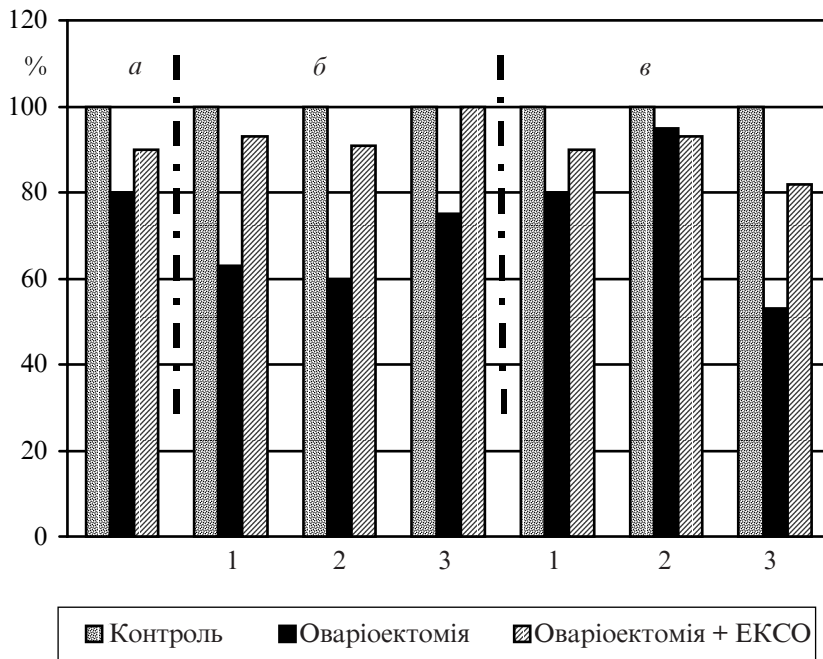


Рисунок. Зміни кількісних показників у структурі стінки матки щурів: а — товщина стінки матки; б — середня площа профілю поперечного перерізу міоцитів міометрія; в — середня площа профілю поперечного перерізу міоцитів ендометрія; 1 — клітина; 2 — цитоплазма; 3 — ядро; * — відмінності вірогідні порівняно з контролем

Таблиця 1

Мітотичний індекс і зміни диференціації клітин покривного епітелію ендометрія щурів, $M \pm m$

Група щурів	Мітотичний індекс, %	Порівняно з контролем		Рівень диференціації клітин, (співвідношення ядро/цитоплазма)	Порівняно з контролем, %
		%	P		
1. Інтактні щури	9,80±1,83	100	—	0,47	100
2. Оваріоектомія	3,40±1,06	35	<0,01	0,26	55
3. Оваріоектомія+ ЕКСО	4,50±1,25	46	<0,05 1-3 >0,05 2-3	0,41	87

Таблиця 2

Морфометричні дослідження клітин епітелію залоз ендометрія щурів, $M \pm m$

Група щурів	Досліджена структура	Середня площа, ум. од.	Порівняно з контролем	
			%	P
1. Інтактні щури	Клітина	7,9 ±0,5	100	—
	Цитоплазма	4,60±0,38	100	—
	Ядро	3,3±0,3	100	—
2. Оваріоектомія	Клітина	7,10±0,47	90	>0,05
	Цитоплазма	4,60±0,38	100	>0,05
	Ядро	2,50±0,28	76	<0,05
3. Оваріоектомія +ЕКСО	Клітина	8,21±0,50	104	>0,05
	Цитоплазма	5,24±0,40	114	>0,05
	Ядро	2,97±0,27	90	>0,05

при візуальному дослідженні, чітко простежувалися тенденції послаблення забарвлення НК і зміни їх топографії в цитоплазмі покривних епітеліоцитів (рисунок, 2 і 3). Весь комплекс згаданих ознак свідчить про атрофічні зміни епітелію. Залози характеризувалися ознаками сплюснення клітин і ущільнення ядер, частина ядер пікнотично змінена. Проте, разом з описаними, траплялися залози, клітини яких брали участь у секретії (містили світлі ядра і вакуолі в цитоплазмі). Поділу клітин шляхом мітозу майже не спостерігалося. Строма ендометрія була набряклою, клітини в ній характеризувалися щільними подовженими ядрами (рисунок, 3, а). В результаті морфометричного аналізу з'ясувалося, що середній об'єм клітин покривного епітелію ендометрія став меншим на 19 %, $P < 0,001$, а їхніх ядер — на 47 %, $P < 0,001$ (рисунок, 1, в). Ядерно-цитоплазматичне співвідношення (Я/Ц), що відображує зміни рівня диференціації клітин, зменшилося на 45 % (див. табл. 1). У залозистому епітелії рівні згаданих параметрів клітин були подібні до таких у покривного епітелію, але вірогідно відрізнялися тільки показники ядерного об'єму (табл. 2). Значення середньої площі профілю поперечного перерізу міоцитів міометрія, їхньої цитоплазми та ядра зменшилися на 37, 40 та 25 % відповідно, $P < 0,001$ (рисунок, 1, б).

Результати кореляційного аналізу показали відсутність значущого кореляційного зв'язку між товщиною стінки матки і площею поперечного перерізу міоцитів ($r = +0,62$ при $P > 0,05$). У той самий час у контрольній групі показник $r = +0,82$, а значення $P > 0,001$.

У групі щурів, що отримували ЕКСО, середня товщина стінки матки збільшилася і наблизилася до рівня контролю. Покривний епітелій ендометрія характеризувався більш стро-

катою морфологічною картиною порівняно з II групою щурів. У ньому, разом з осередками циліндричних клітин, виявлялися в значній кількості епітеліоцити високої циліндричної форми з подовженими щільними й округлими світлими ядрами. Клітини зі світлими ядрами забарвлювалися менш базофільно, іноді містили вакуолі. В деяких ділянках епітелій перетворився на багатошаровий. Описані зміни покривного епітелію свідчать, скоріше за все, про багатогранну функціональну діяльність його клітин. Рееструвалося також збільшення вмісту НК у цитоплазмі епітеліоцитів вищезгаданої групи щурів. Залози ендометрія склалися переважно з високого циліндричного епітелію, в деяких ділянках — багатошарового. Мітозів, як і в покривному епітелії, було порівняно мало. Строма ендометрія виглядала менш компактною порівняно з такою в щурів, які не отримували ЕКСО. Морфометрія показала, що об'ємні величини клітин покривного епітелію та їх структурних частин вірогідно не відрізнялися від відповідних величин контрольної групи щурів. Показник відношення Я/Ц наблизився до рівня контролю. Значення МІ було практично на рівні такого, як у щурів після оваріоектомії, — 4, 5 %. Нормалізація цитологічних показників спостерігалася і в клітинах залоз (див. табл. 2). Показники середньої площі поперечного перерізу міоцитів і їх структурних складових практично нормалізувалися. Як і в контрольній групі щурів, виявився значущий кореляційний зв'язок між товщиною стінки матки і розмірами міоцитів ($r = +0,76$ при $P < 0,05$).

Проведені дослідження показали, що після оваріоектомії виникали атрофічні процеси в тканинах ендо- і міометрія, що призводило до стоншення стінки матки. Атрофія тканин ендометрія супроводжувалася

компактизацією строми, сплюсненням покривного епітелію, зміною рівня диференціювання та вмісту НК у цитоплазмі клітин. Близькими до описаних були і зміни в клітинах залоз. Перераховані ознаки в поєднанні з істотним зменшенням клітин, що поділяються шляхом мітозу, й атрофічними зрушеннями міоцитів міометрія є частиною комплексу морфологічних порушень органів репродуктивної системи, що виникають за умов оваріоектомії в експерименті та клініці [15–17].

У групі щурів, що отримували ЕКСО, товщина стінки матки вірогідно не відрізнялася від контрольного значення. Мікроскопічна будова і досліджені морфометричні показники структур ендометрія та міометрія відповідали таким у щурів контрольної групи. Покривні епітеліоцити і клітини залоз ендометрія характеризувалися нормальними розмірами, показником диференціації та вмістом в них НК. Препарат не мав значущого впливу на мітотичний поділ клітин ендометрія. Розміри міоцитів відповідали рівню таких у контрольній групі і, як наслідок, кореляційний зв'язок між розмірами останніх і товщиною стінки матки в цій групі щурів залишався значущим.

Таким чином, у наших дослідженнях встановлено, що ЕКСО має суттєву протекторну дію на тканини ендо- і міометрія щурів, запобігаючи атрофічним змінам клітин. Разом із тим, враховуючи результати морфометрії, вважаємо за необхідне наголосити, що ознак гіпертрофії та гіперплазії клітин ендометрія — ускладнень, супровідних замісній терапії естрогенами [17], не спостерігалася, що свідчить про м'яку естрогенopodobну дію ЕКСО.

Висновки

1. Введення ЕКСО в умовах оваріоектомії запобігає розвитку атрофічних змін у тка-

нинах ендо- і міометрія за рахунок м'якої естрогенopodobної дії.

2. Фітоестрогени ЕКСО не спричиняють у тканинах матки щурів, що зазнали оваріоектомії, гіпертрофічних та гіперпластичних змін і можуть розглядатися як ефективний засіб замісної гормонотерапії при видаленні яєчників.

ЛІТЕРАТУРА

1. *Левицький А. П.* Биофлавоноиды как регуляторы физиологических функций // *Вісн. стоматології.* — 2001. — № 1. — С. 71-76.
2. *Левицький А. П.* Биофлавоноиды как модуляторы эстрогенной и остеогенной активности // *Вісн. фармакології та фармації.* — 2004. — № 2. — С. 2.
3. *Левицький А. П., Макаренко О. А., Сукманский О. И.* Фитоэстрогены (биохимия, фармакология, применение в медицине). — Одесса, 2002. — 95 с.
4. *Антиоксидантные* характеристики соевых изофлавонов / Л. Н. Россаханова, О. А. Макаренко, А. П. Левицкий, Н. Ю. Лерфина // *Вісн. морської медицини.* — 2002. — № 4. — С. 42-48.
5. *Макаренко О. А., Левицький А. П., Россаханова Л. Н.* Временная и дозозависимая индукция изменений минерального обмена в организме крыс, получавших соевые изофлавоны // *Пробл. остеології.* — 2003. — Т. 6, № 4. — С. 33-36.
6. *Влияние* соевых изофлавонов на протеолитическую активность слизистой оболочки полости рта крыс после оваріоектомии / А. Б. Македон, В. Н. Почтарь, В. Я. Скиба, А. П. Левицкий // *Вісн. стоматології.* — 2003. — № 1. — С. 9-12.
7. *Вплив* біологічно активних добавок (лецитин, віталонг, ЕКСО та СБЖЗ) на рівень здоров'я робітниць швейного підприємства / О. І. Сукманський, А. П. Левицький, Л. І. Гридіна та ін. // *Клін. та експер. патологія.* — 2004. — Т. III, № 2, ч. 1. — С. 217-218.
8. *Спосіб* одержання біологічно активного засобу і біологічно активний засіб ЕКСО, який має остеотропну активність / А. П. Левицький, О. А. Макаренко, О. В. Деньга, Ю. Г. Чумакова // Патент України № 58471 МКИ А 61К 35-78, А61 Р 19/00, 1/02. 15.08.2003. По заяв. № 2000020574 от 02.02.2000. Опубл. Биол. № 8.
9. *Спосіб* лікування уродинамічних порушень у жінок в постмено-

паузальному періоді / Ф. І. Костєв, А. П. Левицький, Ю. М. Дехтяр, Д. А. Мальярчук // Деклар. патент України. № 41756АМКИ7А61 К35/78. 17.09.2001. Заяв. ОДМУ 15.03.2001. Опубл. 17.09.2001. Бюл. № 8.

10. *Применение* препаратов фитоэстрогенов для лечения заболеваний слизистой оболочки полости рта при гипострогенных состояниях у женщин / А. Б. Македон, В. Н. Почтарь, В. Я. Скиба, А. П. Левицкий // *Вісн. стоматології*. — 2004. — № 3. — С. 22-26.

11. *Воскресенская Е. О.* Влияние пищевой добавки ЕКСО (изофлавоноидов) на половое созревание жен-

ского организма. Клинико-экспериментальное исследование // *Растительные адаптогены: Сб. науч. трудов Одес. отд. УБО*. — Одесса: Астропринт, 2000. — 52 с.

12. *Меркулов Г. А.* Курс патологической техники. — Л., 1969. — 423 с.

13. *Пирс Э.* Гистохимия. — М.: ИЛ, 1962. — 962 с.

14. *Автандилов Г. Г.* Медицинская морфометрия: Руководство. — М.: Медицина, 1990. — 384 с.

15. *Шаповал И. В., Поскребышева Е. А., Курило Л. Ф.* Особенности ультраструктурной организации клеток

покровного эпителия матки овариоэктомированных крыс при введении эстрогениндуцированной РНК // *Арх. анат., гистол. и эмбриологии*. — 1978. — № 2. — С. 74-78.

16. *Косей Н. В., Борис О. М., Кваща Т.* Особливості трофічних змін слизової оболонки вагіни у жінок з природною та хірургічною менопаузою // *Педіатр., акуш. та гінекологія*. — 2002. — № 2. — С. 93-98.

17. *Сметник З. П., Тумилович Л. Г.* Неоперативная гинекология: Рук. для врачей. — М.: Мед. информационное агентство, 1998. — 592 с.

UDK 618.141+618.11-089.87+615.322:616-092.4

I. M. Moisyeyev, A. P. Levitsky, O. L. Kholodkova, A. B. Makedon, D. M. Pykhtyeyev

МОРФОЛОГІЧНІ ЗМІНИ ЕНДО- І МІОМЕТРІЯ ЩУРІВ ПІСЛЯ ОВАРІОЕКТОМІЇ ТА ВВЕДЕННЯ ЕКСО

Морфологічними і морфометричними методами вивчено дію ЕКСО — препарату ізофлавоноїдів з бобів сої — на структуру тканин стінки матки в умовах овариоектомії. Встановлено, що препарат справляє протекторний ефект на тканини ендометрія, запобігаючи розвитку в них атрофічних змін. Під впливом ЕКСО покривний епітелій і залози ендометрія зберігали властиву їм форму і структуру і не піддавалися трансформаціям, спричиненим порушенням гормонального гомеостазу, у вигляді змін розмірів клітин, їх структурних компонентів і вмісту НК у цитоплазмі. Істотно, що препарат не чинив помітного впливу на мітотичний поділ клітин і гіперпластичні процеси в ендометрії. Отримані результати свідчать про м'який естрогеноподібний ефект і дозволяють висловити припущення про перспективність використання ЕКСО в замісній естрогенотерапії.

Ключові слова: ЕКСО, овариоектомія, залози ендометрія, міометрій.

UDC 618.141+618.11-089.87+615.322:616-092.4

I. M. Moisyeyev, A. P. Levitsky, O. L. Kholodkova, A. B. Makedon, D. M. Pykhtyeyev

MORPHOLOGICAL CHANGES OF ENDO- AND MYOMETRIUM OF THE RATS AFTER OVARYECTOMY AND EKSO TREATMENT

The action of EKSO — a preparation of isoflavonoids obtained from soy-beans — on the structure of the uterine wall in ovariectomy conditions was discovered by the morphological and morphometric methods. It was established the named preparation effects like protector on the tissues of endo- and myometrium preventing the atrophic changes development. The surface epithelium and the glands of the endometrium preserved their usual shape and structure and did not transform under the hormonal homeostasis disturbance in the case of EKSO usage. In the other case the sizes of the cells, their structural components and nucleic acids content in the cytoplasm changed significantly. It is important that the preparation didn't influence much on the mitotic division of the cells and the hyperplasticity of the endometrium. The obtained data show soft estrogen-like effect of EKSO and permit us to think of perspectives of EKSO usage in substitute therapy with the estrogen.

Key words: EKSO, ovariectomy, endometrial glands, myometrium.

UDK 615.213+615.214+54

Л. С. Годлевський², д-р мед. наук, проф.,

Т. Л. Карасьова¹, д-р біол. наук, проф.,

Л. В. Попова¹,

К. І. Степаненко²,

С. А. Андронаті¹, акад. НАН України, д-р хім. наук

ВПЛИВ ЦИНАЗЕПАМУ НА СТРУКТУРУ ЦИКЛУ СПАННЯ-НЕСПАННЯ У ЩУРІВ

¹Фізико-хімічний інститут ім. О. В. Богатського НАН України, Одеса

²Одеський державний медичний університет

За даними ВООЗ, сьогодні кожна друга доросла людина планети страждає на ті чи інші порушення сну [1; 2]. Найбільш частими причинами роз-

ладів сну є стреси, неврози, психічні, ендокринні та інші захворювання. Регуляція сну, застосування снодійних препаратів спрямовані на нормаліза-

цію сну, покращання якості життя і, в першу чергу, на профілактику захворювань. На жаль, більшість снодійних засобів, які застосовуються для