

Структурные и органометрические изменения матки в условиях темновой депривации

Лариса Игоревна Кондакова , Светлана Александровна Калашникова

Волгоградский государственный медицинский университет, Волгоград, Россия

Аннотация. В эксперименте на беспородных красках-самках 4-месячного возраста изучено влияние 30-суточной темновой депривации (свето-темновой цикл 24/0 ч, искусственное освещение 300 Лк) и 14-дневная коррекция мелатонином на эндометрий матки. Установлено, что 30-дневная темновая депривация приводит к возникновению гиперпластических процессов эндометрия: увеличение количества маточных желез (на 18,9 % $p < 0,05$), утолщению эндометрия (на 12,5 %, $p < 0,05$). Морфометрические характеристики эндометрия однослойного столбчатого эпителия эндометрия и маточных желез были скорректированы введением экзогенного мелатонина в течение 14 суток.

Ключевые слова: фертильность, матка, преждевременное старение, темновая депривация

ORIGINAL RESEARCHES

Original article

doi: <https://doi.org/10.19163/1994-9480-2023-20-3-114-117>

Structural and organometric changes of the uterus in conditions of dark deprivation

Larisa I. Kondakova , Svetlana A. Kalashnikova

Volgograd State Medical University, Volgograd, Russia

Abstract. The effect of 30-day dark deprivation (light-dark cycle 24/0 h, artificial illumination 300 Lux) and 14-day correction with melatonin on the endometrium of the uterus was studied in an experiment on mongrel females of 4 months of age. It was found that 30-day dark deprivation leads to hyperplastic processes of the endometrium: an increase in the number of uterine glands (by 18.9 % $p < 0.05$), thickening of the endometrium (by 12.5 %, $p < 0.05$). Morphometric characteristics of the endometrium: single-layer columnar epithelium of the endometrium and uterine glands were corrected by administration of exogenous melatonin for 14 days.

Keywords: fertility, uterus, premature aging, dark deprivation

По данным демографического прогноза Росстата до 2035 г. отмечается снижение рождаемости на 11,5 % [1]. Данная тенденция может быть обусловлена увеличением заболеваемости детей в возрасте 0–14 лет по основным классам болезней в 2000–2021 гг. на 12,6 % [2], что приводит к снижению фертильности и бесплодию. Негативное воздействие на состояние организма также оказывают окружающая среда и условия труда: работа в ночную смену снижает уровень адаптационных и функциональных возможностей организма, нарушает циркадные ритмы, выработку половых стероидных гормонов. Органом-мишенью женской репродуктивной системы, обладающим высокой чувствительностью к половым стероидным гормонам, является матка. Негативные изменения, возникающие в гипоталамо-гипофизарно-гонадной оси, вызывают соответствующие изменения в матке, приводящие к нарушению реализации репродуктивной функции [3]. Для достижения беременности важно состояние эндометрия матки [4]. Любой патологический процесс, нарушающий анатоми-функ-

циональное состояние матки, может способствовать формированию бесплодия. Исходя из существующей ситуации, раннюю диагностику и коррекцию преждевременного старения репродуктивной системы следует рассматривать как резерв по повышению рождаемости и увеличению репродуктивного потенциала страны. Одним из таких маркеров является белок Клото. Было доказано снижение концентрации белка Клото в крови при прогрессировании заболеваний почек, сердечно-сосудистых заболеваний, сахарного диабета [5], центральной нервной системы [6]. Именно поэтому появляется необходимость изучения новых маркеров преждевременного старения. Поэтому целесообразно рассмотреть вопрос морфометрических параметров матки в условиях светового десинхроноза, вызванного темновой депривацией.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Определить влияние преждевременного старения, вызванного темновой депривацией на морфометрические показатели матки крыс.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование проводилось на 36 белых беспородных половозрелых 4-месячных крысах-самках (питомник филиала «Столбовая» ФГБУН НЦБМТ ФМБА России, Московская область), одобрено локальным этическим комитетом Волгоградского государственного медицинского университета (справка от 25.11.2022 № 2022/164) с соблюдением правил лабораторной практики РФ (ГОСТ 33044-2014), директивы 2010/63/EU Европейского парламента, совета Европейского союза от 22.09.2010. После синхронизации эстральных циклов экспериментальные животные были распределены на три группы: одна контрольная и две опытные по 12 животных в каждой. Опытные группы животных находились при 24-часовом искусственном освещении (300 Люкс) в течение 30 суток, в то время как группа контроля – при 12-часовом искусственном свето-темновом режиме. После 30-суточной темновой депривации животным второй опытной группы внутривенно вводили мелатонин (0,3 мг/кг в 2%-й крахмальной слизи (НАО «Северная звезда», Россия), остальные животные первой опытной и контрольной групп получали 2%-ю крахмальную слизь в эквивалентном объеме.

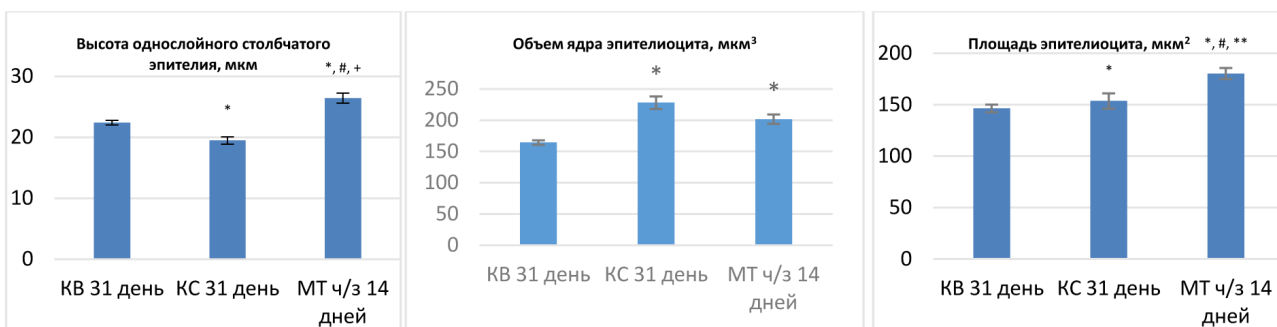
Проводилась оценка фаз эстрального цикла (проэструс, эструс, метэструс и диэструс) гистологическим изучением влагалищных мазков. После окончания эксперимента у крыс вскрывали брюшную полость, извлекали матку, фиксировали в нейтральном забуференном формалине, заливали в парафин, выполняли из блоков на микротоме срезы и окрашивали гематоксилином Майера и эозином. Фотосъемку и морфометрическое исследование выполняли на базе микроскопа

Leica DM 1000 (Германия) с использованием программного комплекса LAS v.4.7. Определялись следующие показатели: толщина эндометрия и миометрия, их соотношение, высота однослойного призматического эпителия, высота и площадь призматических эпителиоцитов эндометрия и их ядер с последующим расчетом ядерно-цитоплазматического индекса, объем ядер, высота и площадь экзокриноцитов маточных желез, площадь и объем ядер экзокриноцитов, рассчитывали ядерно-цитоплазматический индекс и удельную долю желез эндометрия.

Статистическая обработка данных проведена с привлечением возможностей программы GraphPad Prism 8.0, включая ранговый однофакторный дисперсионный анализ Краскела – Уоллиса с апостериорным критерием Данна и проверкой распределения на нормальность с помощью критерия Шапиро – Уилка. Различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

На фоне моделированного ускоренного старения выявлено утолщение эндометрия матки крыс на 12,5 % ($p < 0,05$). Морфологическое исследование однослойного столбчатого эпителия эндометрия матки крыс, подвергшихся 30-суточной темновой депривации, на 31-е сутки показало уменьшение высоты однослойного столбчатого эпителия на 15,1 % ($p < 0,05$), однако средняя площадь эпителиоцита увеличилась на 5 % ($p < 0,05$). Также отмечалось увеличение объема ядра эпителиоцита на 38,7 % ($p < 0,01$) и ядерно-цитоплазматического индекса на 25 % (рис. 1).



* $p < 0,01$ – по отношению к показателю животных контрольной группы, # $p < 0,05$ – по отношению к показателю животных контрольной группы, + $p < 0,01$ – по отношению к показателю животных опытной группы, ** $p < 0,05$ – по отношению к показателю животных опытной группы (ранговый однофакторный анализ Краскела – Уоллиса, критерий Данна)

Рис. 1. Морфометрические параметры однослойного столбчатого эпителия эндометрия матки крыс с ускоренным старением, вызванного 30-дневной темновой депривацией (свето-темновой цикл 24/0 ч), $M \pm t$

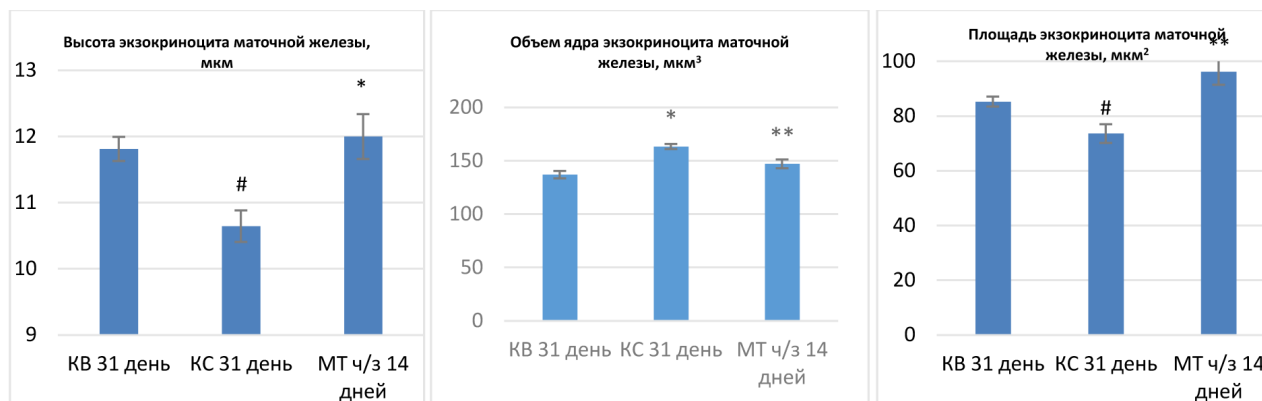
Гистологическое изучение маточных желез самок крыс с ускоренным старением показало увеличение их количества на 18,9 % ($p < 0,05$), уменьшение высоты, площади секреторных эпителиоцитов – на 9,9 и 13,7 % ($p < 0,01$) соответственно. Одновременно было установлено увеличение объема ядра экзокриноцита маточной железы на 19,3 % ($p < 0,05$) (рис. 2).

Через 14 дней после коррекции экзогенным мелатонином отмечалось статистически значимое уменьшение толщины эндометрия на 9,8 % ($p < 0,05$). При гистологическом исследовании эндометрия матки было выявлено достоверное увеличение высоты, площади эпителиоцита на 35,4 ($p < 0,01$) и 17,4 % ($p < 0,05$) соответственно. Было установлено уменьшение объема

ядра однослойного столбчатого эпителия на 7,1 % и ядерно-цитоплазматического индекса на 25 % (рис. 1).

При гистологическом исследовании маточных желез были выявлены следующие изменения: увеличение

высоты, площади секреторных эпителиоцитов маточных желез на 13,2 % ($p < 0,05$) и 30,7 % ($p < 0,01$) соответственно. Одновременно уменьшается объем их ядер на 10 % ($p < 0,01$) по сравнению с опытной группой (рис. 2).



* $p < 0,05$ – по отношению к показателю опытной группы животных, # $p < 0,01$ – по отношению к показателю животных контрольной группы, + $p < 0,05$ – по отношению к показателю контрольной группы животных, ** $p < 0,01$ – по отношению к показателю опытной группы животных (ранговый однофакторный анализ Краскела – Уоллиса, критерий Данна)

Рис. 2. Морфометрические параметры маточных желез крыс с ускоренным старением, вызванным 30-дневной темновой депривацией (свето-темновой цикл 24/0 ч), $M \pm t$

По результатам проведенного морфологического анализа можно полагать, что модель ускоренного старения – 30-дневная темновая депривация – приводит к снижению уровня секреции мелатонина в эпифизе, обладающего антигонадотропным эффектом. Это приводит к повышению уровня женских половых гормонов, увеличению уровня фолликулостимулирующего гормона (ФСГ). На фоне увеличения выработки ФСГ происходит гиперплазия эндометрия, сопровождающаяся морфофункциональными изменениями состояния однослойного столбчатого эпителия матки, а также маточных желез. Необходимо отметить, что происходит увеличение объема ядра клеток однослойного столбчатого эпителия эндометрия, что является индикатором морфофункционального состояния клетки. Изменения объема ядра клеток происходит при физиологических (старении) и патологических состояниях [7, 8, 9]. Последние исследования показывают, что изменения размера ядра клетки могут действовать как прайминговое событие, приводя к снижению адаптационной устойчивости [10].

Экзогенное введение мелатонина в течение 14 дней сопровождалось уменьшением толщины эндометрия практически до показателей группы контроля, что говорит о положительном эффекте мелатонина при гиперпластических процессах в матке [11], что подтверждает такую функцию мелатонина, как контроль процессов пролиферации, и сохранение апоптоза в эндометрии матки. Мелатонин также способствовал нормализации морфометрических характеристик клеток однослойного столбчатого эпителия эндометрия и экзокриоцитов маточных желез.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные в ходе исследования данные свидетельствуют о том, что световой десинхронизм, вызванный темновой депривацией, приводит к гиперпластическим изменениям эндометрия матки, что может быть расценено как неблагоприятный фактор в реализации механизмов гипоталамо-гипофизарно-гонадной регуляции процессов адаптогенеза.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Демографический прогноз до 2035 года: Федеральная служба государственной статистики. URL: <https://rosstat.gov.ru/folder/12781> (дата обращения: 09.06.2023).
2. Демографический прогноз до 2035 года: Федеральная служба государственной статистики. URL: <https://rosstat.gov.ru/folder/13721> (дата обращения: 09.06.2023).
3. Stamatiades G.A., Carroll R.S., Kaiser U.B. GnRH-A key regulator of FSH. *Endocrinology*. 2019;160:57–67.
4. Оразов М.Р., Краснопольская К.В., Силантьева Е.С. и др. «Проблемный» эндометрий как фактор бесплодия: поиск путей преодоления продолжается. *Трудный пациент*. 2020;18(8–9):13–19.
5. Замяткова Л.В., Овсянникова Е.Г., Левитан Б.Н. и др. Белок Klotho в клинической практике. *Астраханский медицинский журнал*. 2021;16(2):26–36.
6. Бокша И.С., Прохорова Т.А., Савушкина О.К., Терешкина Е.Б. Белок клото: роль при старении организма и патологии центральной нервной системы. *Биохимия*. 2017;82(9):1278–1295.
7. Арешидзе Д.А. Механизмы поддержания и изменений формы и размеров клеточного ядра (обзор). *Морфологические ведомости*. 2022;30(3):73–80.

8. Brandt A., Krohne G., Großhans J. The farnesylated nuclear proteins KUGELKERN and LAMIN B promote aging-like phenotypes in *Drosophila* flies. *Aging Cell*. 2008;7:541–551.

9. Capell B.C., Collins F.S. Human laminopathies: nuclei gone genetically awry. *Nature reviews. Genetics*. 2006; 7(12):940–952.

10. Smoyer C.J., Jaspersen S.L. Patrolling the nucleus: inner nuclear membrane-associated degradation. *Current genetics*. 2019;65(5):1099–1106.

11. Гафарова Е.А. Клиническое значение мелатонина в развитии симптомов климактерического синдрома: дис. ... канд. мед. наук. Казань, 2005. 144 с.

REFERENCES

1. Demographic forecast until 2035: Federal State Statistics Service. (In Russ.) URL: <https://rosstat.gov.ru/folder/12781> (accessed: 09.06.2023).

2. Demographic forecast until 2035: Federal State Statistics Service. (In Russ.) URL: <https://rosstat.gov.ru/folder/13721> (accessed: 09.06.2023).

3. Stamatiades G.A., Carroll R.S., Kaiser U.B. GnRH-A key regulator of FSH. *Endocrinology*. 2019;160:57–67.

4. Orazov M.R., Krasnopolskaya K.V., Silantjeva E.S. et al. “Problematic” endometrium as a factor of infertility:

the search for ways to overcome continues. *Trudnyi patsient = Difficult Patient*. 2020;18(8–9):13–19. (In Russ.).

5. Zaklyakova L.V., Ovsyannikova E.G., Levitan B.N. et al. Klotho protein in clinical practice. *Astrakhanskii meditsinskii zhurnal = Astrakhan Medical Journal*. 2021;16(2):26–36. (In Russ.).

6. Boksha I.S., Prokhorova TA, Savushkina O.K., Tereshkina E.B. Klotho protein: role in aging of the body and pathology of the central nervous system. *Biokhimiya = Biochemistry*. 2017;82(9):1278–1295. (In Russ.).

7. Areshidze D.A. Mechanisms for maintaining and changing the shape and size of the cell nucleus (review). *Morphological Vedomosti = Morphological Newsletter*. 2022; 30(3):73–80. (In Russ.).

8. Brandt A., Krohne G., Großhans J. The farnesylated nuclear proteins KUGELKERN and LAMIN B promote aging-like phenotypes in *Drosophila* flies. *Aging Cell*. 2008;7:541–551.

9. Capell B.C., Collins F.S. Human laminopathies: nuclei gone genetically awry. *Nature reviews. Genetics*. 2006; 7(12):940–952.

10. Smoyer C.J., Jaspersen S.L. Patrolling the nucleus: inner nuclear membrane-associated degradation. *Current genetics*. 2019;65(5):1099–1106.

11. Gafarova E.A. Clinical significance of melatonin in the development of symptoms of climacteric syndrome. Dissertation of the Candidate of Medical Sciences. Kazan, 2005. 144 p. (In Russ.).

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Информация об авторах

Л.И. Кондакова – кандидат медицинских наук, доцент, доцент кафедры гистологии, эмбриологии, цитологии, Волгоградский государственный медицинский университет, Волгоград, Россия; ✉ larisakondakova@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-9028-2993>

С.А. Калашникова – доктор медицинских наук, доцент, заведующая кафедрой анатомии, Волгоградский государственный медицинский университет, Волгоград, Россия; kalashnikova-sa@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7688-9366>

Статья поступила в редакцию 09.06.2023; одобрена после рецензирования 14.06.2023; принята к публикации 14.08.2023.

Competing interests. The authors declare that they have no competing interests.

Information about the authors

L.I. Kondakova – Candidate of Medical Sciences, Associate Professor, Associate Professor of the Department of Histology, Embryology, Cytology, Volgograd State Medical University, Volgograd, Russia, ✉ larisakondakova@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-9028-2993>

S.A. Kalashnikova – Doctor of Medical Sciences, Associate Professor, Head of the Department of Anatomy, Volgograd State Medical University, Volgograd, Russia; kalashnikova-sa@yandex.ru <https://orcid.org/0000-0002-7688-9366>

The article was submitted 09.06.2023; approved after reviewing 14.06.2023; accepted for publication 14.08.2023.