

Е.В. Поротникова, А.П. Надеев, Л.Ю. Костина

## ПОСЛЕРОДОВАЯ ИНВОЛЮЦИЯ МИОМЕТРИЯ МЫШЕЙ В УСЛОВИЯХ ОСТРОГО ТОКСИЧЕСКОГО ГЕПАТОЗА

*Новосибирский государственный медицинский университет,  
630091, Красный проспект, 52, тел. 8-(383)-222-32-04, e-mail: rector@ngmu.ru, г. Новосибирск*

### Резюме

Целью исследования явилось изучение структурные процессы послеродовой инволюции миометрия мышечной линии C57Bl/6 в условиях острого CCl<sub>4</sub>-индуцированного гепатоза. Исследование было проведено на 60 самках мышечной линии C57Bl/6. Животные были разделены на 2 группы: 1-я – мышечная контрольная группа с физиологически беременностью, 2-я – беременные мышечные с острым CCl<sub>4</sub>-индуцированным гепатозом. Основным механизмом процесса послеродовой инволюции миометрия мышечной линии C57Bl/6 явился класмацитоз, который морфологически был представлен наличием в интерстиции цитоплазматических конгломератов, в меньшей степени – апоптоз миоцитов. Более выраженные проявления процессов инволюции наблюдались в подсерозном мышечном слое, меньшие изменения – в сосудистом мышечном слое и менее всего в подсосудистом (субмукозном) мышечном слое. Процессы инволюции миометрия у мышечной линии C57Bl/6 в условиях острого CCl<sub>4</sub>-индуцированного гепатоза замедляются и не завершаются к 10-м суткам послеродового периода, в отличие от мышечной контрольной группы.

*Ключевые слова:* послеродовая инволюция матки, острый CCl<sub>4</sub>-индуцированный гепатоз, апоптоз, класмацитоз миоцитов.

E.V. Porotnikova, A.P. Nadeev, L.Yu. Kostina

## POSTPARTUM INVOLUTION OF MOUSE MYOMETRIUM UNDER CONDITIONS OF ACUTE TOXIC HEPATOSIS

*Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk*

### Summary

The goal of the research was to study the structural processes of postpartum myometrial involution of C57Bl/6 mice in conditions of acute CCl<sub>4</sub>-induced hepatosis. The study was conducted on 60 female C57Bl/6 mice. Animals were divided into 2 groups: 1st – mice of the control group with physiological pregnancy, 2nd – pregnant mice with acute CCl<sub>4</sub>-induced hepatosis. The main mechanism of the process of postpartum involution of the myometrium of C57Bl/6 mice was clasmacytosis, that was morphologically represented by the presence of cytoplasmic conglomerates in the interstitium, and to a lesser extent myocyte apoptosis. More pronounced manifestations of the processes of involution were observed in the subserous muscle layer, smaller changes were observed in the vascular muscle layer and least of all in the subvascular (submucous) muscle layer. The myometrial involution processes in C57Bl/6 mice under conditions of acute CCl<sub>4</sub>-induced hepatosis slow down and do not end by the 10th day of the postpartum period, in contrast to mice of the control group.

*Key words:* postpartum uterine involution, acute CCl<sub>4</sub>-induced hepatosis, apoptosis, clasmacytosis of myocytes.

Патология печени является одной из частых причин развития нарушения развития беременности и родов, а также процессов послеродовой инволюции матки, и обуславливает высокие показатели материнской и перинатальной смертности [2, 3]. К наиболее часто встречающимся заболеваниям печени у беременных женщин относятся острый жировой гепатоз беременных, внутрипеченочный холестаз беременных, пре-эклампсия, HELLP-синдром и другие [6].

Печень является одним из ключевых органов, обеспечивающих постоянство внутренней среды

организма. Одной из важных функций печени является метаболизм половых стероидных гормонов, которые в свою очередь, играют важную роль в развитии, течение беременности и послеродового периода, они взаимосвязаны и имеют четкое соотношение баланса.

*Цель исследования* – изучить структурные процессы послеродовой инволюции миометрия мышечной линии C57Bl/6 в условиях острого CCl<sub>4</sub>-индуцированного гепатоза.

### Материалы и методы

Исследование было проведено на 60 самках мышечной линии C57Bl/6 массой 20-22 г. Животные были получены из лаборатории разведения экспериментальных животных Института цитологии и генетики СО РАН (г. Новосибирск).

Животные были разделены на 2 группы по 30 животных: 1-я (контрольная) – мышечные с физиологически

развивающейся беременностью; 2-я – беременные мышечные с острым CCl<sub>4</sub>-индуцированным гепатозом. Для моделирования острого гепатоза самкам на 13-14-е сутки беременности внутривентрально однократно вводили 50 % раствор тетрахлорметана на оливковом масле в дозировке 0,3 мл/кг. Образцы печени и маток для 1-й (контрольной) группы забирали на 1-е и 10-е

сутки послеродового периода, а для 2-й группы – на 1-е, 3-е, 5-е и 10-е сутки послеродового периода. Животных выводили из эксперимента под эфирным наркозом методом дислокации шейных позвонков.

Все манипуляции с лабораторными животными проводили, соблюдая «Правила проведения работ с использованием экспериментальных животных» (Страсбург, 1986), принципы гуманности, изложенные в директивах Европейского сообщества (86/609/ЕЕС), «Принципы надлежащей лабораторной практики» (ГОСТ Р53434-2009 от 01.03. 2010 г. идентичен GLPOECD).

Образцы печени и матки фиксировали в 10 % нейтральном растворе формалина, затем подвергали стандартной гистологической проводке, заливали образцы в парафин. Микропрепараты толщиной 3-4 мкм окрашивали гематоксилином и эозином.

При морфометрии использовали закрытую тестовую систему, состоящую из 25 точек. Было иссле-

довано по 100 полей зрения на каждый период наблюдения. Подсчитывали объемные плотности (Vv): апоптотически измененных миоцитов, определяемых по визуальным цитологическим признакам – апоптотическое тельце, кариопикноз, кариорексис; интерстициальных цитоплазматических конгломератов (ИЦК), являющихся морфологическим проявлением процесса класмацитоза [4], и некротически измененных миоцитов.

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием лицензионного пакета программ прикладной статистики «Microsoft Excel 2010», определяли среднюю величину (M) и стандартную ошибку среднего (m). Характеристики выборок приведены в таблицах как M±m. Достоверность статистически значимых различий средних величин рассчитывали по t-критерию Стьюдента для несвязных выборок при p<0,05.

### Результаты и обсуждение

При остром CCl<sub>4</sub>-индуцированном гепатозе в печени мышей 2-й группы при гистологическом исследовании наблюдали очаги микронекрозов гепатоцитов, преимущественно гидропическая (вакуольная вплоть до баллонной) дистрофия гепатоцитов, встречалось большое количество двуядерных гепатоцитов. Данные изменения отмечали как на 1-е, так и на 10-е сутки послеродового периода.

В миометрии у животных 1-й и 2-й групп во все периоды наблюдения определяли ИЦК – продукты класмацитоза, апоптотически измененные миоциты (рис. 1) и очень редкие некротизированные миоциты. Указанные морфологические проявления инволюции матки были более выражены в надсосудистом (подсерозном) мышечном слое, менее – в сосудистом мышечном слое и еще меньше в подсосудистом (субмукозном) мышечном слое.

У контрольных животных (1-я группа) объемная плотность (Vv) продуктов класмацитоза (ИЦК), апоптотически измененных миоцитов и некротизированных миоцитов уменьшалась от 1-х к 10-м суткам (таблица). У мышей 2-й (опытной) группы объемная плотность (Vv) ИЦК в миометрии увеличивалась от 1-х до 5-х суток послеродового периода, а затем к 10-м суткам уменьшалась, но оставалась большей, чем у мышей 1-й (контрольной) группы на 10-е сутки. При сравнении показателей объемной плотности (Vv) про-

дуктов класмацитоза на 1-е сутки у мышей 2-й группы показатель был в 1,7 раз меньше, чем у мышей 1-й (контрольной) группы, на 3-и сутки – меньше в 1,3 раза, а на 5-е сутки стал в 1,4 раза больше. У животных 2-й (опытной) группы на 10-е сутки послеродового периода, объемная плотность (Vv) продуктов класмацитоза была значительно большим, чем у мышей 1-й (опытной) группы.

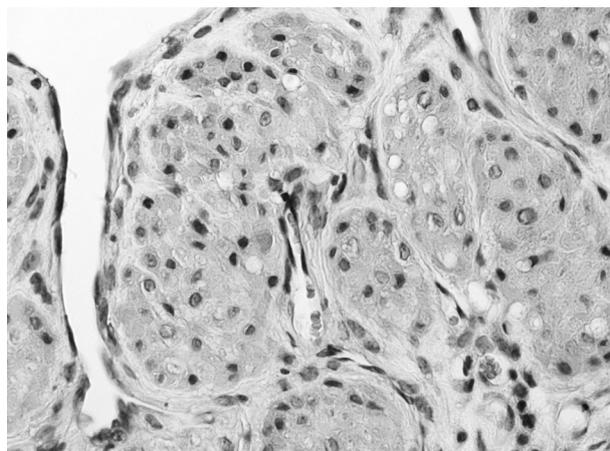


Рис. 1. Миометрий мыши линии C57Bl/6 с CCl<sub>4</sub>-индуцированным гепатозом на 1-е сутки после родов: гипертрофия миоцитов, в интерстиции визуализируются цитоплазматические конгломераты (продукты класмацитоза), апоптотически измененные миоциты, митозы. ×400. Окраска гематоксилином и эозином

Таблица

Результаты морфометрического исследования миометрия мышей линии C57Bl/6 в процессе послеродовой инволюции условиях острого CCl<sub>4</sub>-индуцированного гепатоза (M±m)

Объемная плотность (Vv)	Контрольные животные (1-я группа)		Животные с CCl <sub>4</sub> -индуцированным гепатозом (2-я группа)			
	1-е сутки после родов	10-е сутки после родов	1-е сутки после родов	3-и сутки после родов	5-е сутки после родов	10-е сутки после родов
Цитоплазматические конгломераты	2,35±0,23	0,01±0,01	1,35±0,2*	1,87±0,22	3,2±0,24*	1,76±0,2**
Апоптотически измененные миоциты	0,32±0,05	0,21±0,05	0,36±0,06	0,22±0,05	0,43±0,06	0,3±0,05
Некротизированные миоциты	0,32±0,06	0,01±0,01	0,32±0,07	0,04±0,02*	0,12±0,03*	0,05±0,03

Примечание. «\*» обозначены отличия статистически значимы в сравнении с животными 1-й (контрольной) группы на 1-е сутки после родов, p<0,05; «\*\*» – отличия статистически значимы в сравнении с животными 1-й (контрольной) группы на 10-е сутки после родов, p<0,05.

Объемная плотность ( $V_v$ ) апоптотически измененных миоцитов у мышей 2-й (опытной) группы не имела значительных изменений и при сравнении с аналогичными показателями у мышей 1-й (контрольной) группы в аналогичные сроки были незначительно больше.

Объемная плотность ( $V_v$ ) некротизированных миоцитов у мышей 2-й (опытной) группы также изменялась незначительно на протяжении послеродового периода, и эти показатели при сравнении с мышами 1-й (контрольной) группы не отличались.

Основными механизмами, реализующие процессы послеродовой инволюции миомерии, являются клазмацитоз, апоптоз, аутофагия и некроз, причем ведущая роль, по данным некоторых авторов, отдается апоптозу [1, 7, 12], а в других исследованиях – клазмацитозу [4, 10, 11]. Исходя из полученных нами данных, преобладающим механизмом инволюции миомерии явился клазмацитоз, поскольку доля ИЦК по сравнению с апоптотически измененными миоцитами была большей.

Известно, что у мышей к 10-м суткам послеродового периода процессы инволюции миомерии полностью завершаются [4], что подтверждается нашими результатами: в 1-й (контрольной) группе мышей с физиологической беременностью на 10-е сутки после родов не определяли ИЦК, некротизированные миоциты, а уровень апоптотически измененных миоцитов был крайне низким. Однако при  $CCl_4$ -индуцированном остром гепатозе на 10-е сутки определялись ИЦК и апоптотически измененные миоциты, что говорит о продолжающихся процессах инволюции миомерии (рис. 2).

Нарушение функции печени приводит к увеличению уровня половых стероидных гормонов, поскольку не происходит нормального метаболизма эстрогенов и прогестерона, и их инактивации. Известно, что высокий уровень эстрогенов может стимулировать апоптоз [9, 14], а высокий уровень прогестерона, наоборот, ингибирует апоптоз [13]. Учитывая полученные нами

данные о незначительных отличиях в уровне апоптотически измененных миоцитов, в сравниваемых группах животных, можно сделать вывод, что нарушение функции печени не оказывает влияние на этот механизм.

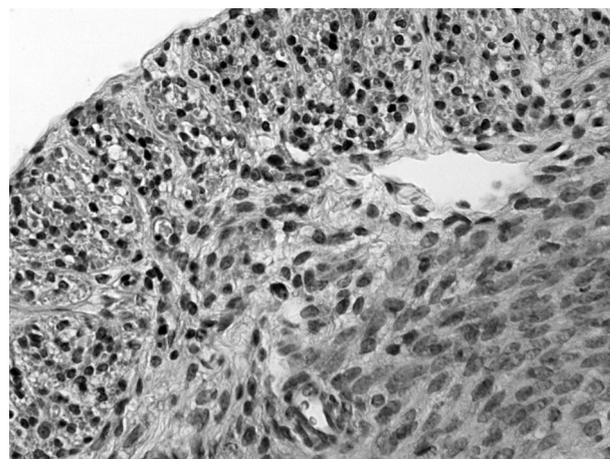


Рис. 2. Миомерия мышья линии C57Bl/6 с  $CCl_4$ -индуцированным гепатозом на 10-е сутки после родов: выраженные многочисленные цитоплазматические конгломераты в интерстиции, апоптотически измененные миоциты.  $\times 400$ . Окраска гематоксилином и эозином

Вероятно, что при остром токсическом гепатозе нарушается процесс метаболизма половых гормонов, что приводит к изменению соотношения эстрогена и прогестерона с увеличением концентрации последнего и сохранением клазмацитоза миоцитов в послеродовой период [5, 8].

Кроме того, известно, что активные метаболиты кислорода являются мощными индукторами активации процесса клазмацитоза [4]. Постоянно нарастающий к 5-м суткам, а затем снижающийся к 10 суткам уровень продуктов клазмацитоза, может быть связан с наличием активных метаболитов кислорода, которые появились в результате окислительного стресса, обусловленного токсическим повреждением печени во время беременности и послеродовом периоде, и собственно самим процессом родовой деятельности.

## Выводы

1. Основным механизмом процесса послеродовой инволюции миомерии мышья линии C57Bl/6 явился клазмацитоз, который морфологически был представлен наличием в интерстиции цитоплазматических конгломератов, в меньшей степени – апоптоз миоцитов.
2. Более выраженные проявления процессов инволюции наблюдались в подсерозном мышечном слое, меньшие изменения – в сосудистом мышечном слое и

менее всего в подсосудистом (субмукозном) мышечном слое.

3. Процессы инволюции миомерии у мышья линии C57Bl/6 в условиях острого  $CCl_4$ -индуцированного гепатоза замедляются и не завершаются к 10-м суткам послеродового периода, в отличие от мышья контрольной группы.

## Литература

1. Долгих О.В., Агафонов Ю.В., Зашихин А.Л. Гладкая мышечная ткань матки в период раннего пуэрперия: механизмы инволюции // Экология человека. – 2012. – № 12. – С. 31-35.
2. Надеев А.П., Жукова В.А. Патологическая анатомия акушерских заболеваний. – Новосибирск: Наука, 2018. – 212 с.
3. Надеев А.П., Жукова В.А., Травин М.А., Мозолева С.П. Патология печени и материнская смертность // Архив патологии. – 2018. – Т. 80, № 2. – С. 43-47.
4. Шкурूपий В.А. Миомерия при беременности и после родов: Механизмы клеточных преобразований. – Новосибирск: Наука, 2012. – 147 с.
5. Biazik J.M., Parker S.L., Murphy C.R., Thompson M.B. Uterine epithelial morphology and progesterone receptors in a mifepristone-treated viviparous lizard *Pseudomoia antrecauxii* (Squamata: Scincidae) during gestation // Journal of experimental zoology. Part B, molecular and developmental evolution. – 2012. – Vol. 318, № 2. – P. 148-158.

6. García-Romero C.S., Guzman C., Cervantes A, Cerbón M. Liver disease in pregnancy: Medical aspects and their implications for mother and child // *Annals of hepatology*. – 2019. – Vol. 18, № 4. – P. 553-562.

7. Hsu K.F., Pan H.A., Hsu Y.Y., et al. Enhanced myometrial autophagy in postpartum uterine involution // *Taiwanese journal obstetrics gynecology*. – 2014. – Vol. 53, № 3. – P. 293-302.

8. Hughes J., Berger T. Development of apical blebbing in the boar epididymis // *Public Library of Science*. – 2015. – Vol. 10, № 5. – e0126848.

9. Lei X., Cui K., Liu Q., et al. Exogenous estradiol benzoate induces spermatogenesis disorder through influencing apoptosis and oestrogenreceptor signaling pathway // *Reproduction in domestic animals*. – 2016. – Vol. 51, № 1. – P. 75-84.

10. Shkurupiy V.A., Dubinin E.V., Dubinina N.N. Structural transformations of myocytes during gestation and early postpartum involution of the uterus // *Bulletin*

of experimental biology and medicine. – 2008. – Vol. 146, № 6. – P. 845-848.

11. Shkurupiy V.A., Obedinskaya K.S., Nadeev A.P. Morphological study of the main mechanisms of myometrium involution after repeated pregnancies in mice // *Bulletin of experimental biology and medicine*. – 2011. – Vol. 150, № 3. – P. 378-382.

12. Wang L., Hu H., Morse A.N., et al. Activation of autophagy in human uterine myometrium during labor // *Reproductive Sciences*. – 2019. – Vol. 26. – P. 307 A.

13. Wang Y., Abrahams V.M., Luo G., et al. Progesterone inhibits apoptosis in fetal membranes by altering expression of both pro- and antiapoptotic proteins // *Reproductive sciences*. – 2018. – Vol. 25, № 8. – P. 1161-1167.

14. Wu J., Miao C., Lv X., et al. Estrogen regulates forkhead transcription factor 2 topromote apoptosis of human ovarian granulosa-like tumor cells // *The Journal of steroid biochemistry and molecular biology*. – 2019. – Vol. 194. – P. 105418.

#### Literature

1. Dolgikh O.V., Agafonov Yu.V., Zashikhin A.L. The uterus smooth muscular tissue in early puerperium: involution mechanism // *Human Ecology*. – 2012. – № 12. – P. 31-35.

2. Nadeev A.P., Zhukova V.A. Pathological anatomy of obstetric disease. – Novosibirsk: Nauka, 2018. – 212 p.

3. Nadeev A.P., Zhukova V.A., Travin M.A., Mozolova S.P. Liver disease and maternal mortality // *Archive of Pathology*. – 2018. – Vol. 80, № 2. – P. 43-47.

4. Shkurupiy V.A. Myometrium during pregnancy and postpartum: mechanisms of cell transformations. – Novosibirsk: Nauka, 2012. – 147 p.

5. Biazik J.M., Parker S.L., Murphy C.R., Thompson M.B. Uterine epithelial morphology andprogesterone receptors in a mifepristone-treated viviparous lizard *Pseudemoiaentrecasteauxii* (Squamata: Scincidae) during gestation // *Journal of experimental zoology. Part B, molecular and developmental evolution*. – 2012. – Vol. 318, № 2. – P. 148-158.

6. García-Romero C.S., Guzman C., Cervantes A, Cerbón M. Liver disease in pregnancy: Medical aspects and their implications for mother and child // *Annals of hepatology*. – 2019. – Vol. 18, № 4. – P. 553-562.

7. Hsu K.F., Pan H.A., Hsu Y.Y., et al. Enhanced myometrial autophagy in postpartum uterine involution // *Taiwanese journal obstetrics gynecology*. – 2014. – Vol. 53, № 3. – P. 293-302.

8. Hughes J., Berger T. Development of apical blebbing in the boar epididymis // *Public Library of Science*. – 2015. – Vol. 10, № 5. – e0126848.

9. Lei X., Cui K., Liu Q., et al. Exogenous estradiol benzoate induces spermatogenesis disorder through influencing apoptosis and oestrogenreceptor signaling pathway // *Reproduction in domestic animals*. – 2016. – Vol. 51, № 1. – P. 75-84.

10. Shkurupiy V.A., Dubinin E.V., Dubinina N.N. Structural transformations of myocytes during gestation and early postpartum involution of the uterus // *Bulletin of experimental biology and medicine*. – 2008. – Vol. 146, № 6. – P. 845-848.

11. Shkurupiy V.A., Obedinskaya K.S., Nadeev A.P. Morphological study of the main mechanisms of myometrium involution after repeated pregnancies in mice // *Bulletin of experimental biology and medicine*. – 2011. – Vol. 150, № 3. – P. 378-382.

12. Wang L., Hu H., Morse A.N., et al. Activation of autophagy in human uterine myometrium during labor // *Reproductive Sciences*. – 2019. – Vol. 26. – P. 307 A.

13. Wang Y., Abrahams V.M., Luo G., et al. Progesterone inhibits apoptosis in fetal membranes by altering expression of both pro- and antiapoptotic proteins // *Reproductive sciences*. – 2018. – Vol. 25, № 8. – P. 1161-1167.

14. Wu J., Miao C., Lv X., et al. Estrogen regulates forkhead transcription factor 2 topromote apoptosis of human ovarian granulosa-like tumor cells // *The Journal of steroid biochemistry and molecular biology*. – 2019. – Vol. 194. – P. 105418.

**Координаты для связи с авторами:** Поротникова Екатерина Вячеславовна – очный аспирант кафедры патологической анатомии НГМУ, e-mail: porotnikova-ev@mail.ru; Нadeev Александр Петрович – д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой патологической анатомии НГМУ, тел. +7-913-928-80-34, e-mail: nadeevngma@mail.ru; Костина Лариса Юрьевна – канд. мед. наук, доцент кафедры топографической анатомии и оперативной хирургии НГМУ.

