

DOI: 10.26693/jmbs03.06.026

УДК 612.444-06:618

Кузик Ю. І.<sup>1</sup>, Чоренька Г. М.<sup>2</sup>, Логаш М. В.<sup>1</sup>

## МОРФОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ЕНДОМЕТРІЯ У ЖІНОК РЕПРОДУКТИВНОГО ВІКУ ТА САМИЦЬ ЩУРА: ПОРІВНЯЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА МОРФОМЕТРИЧНОГО ДОСЛІДЖЕННЯ

<sup>1</sup>Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, Україна

<sup>2</sup>Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського, Україна

juliakuzyk21@gmail.com

У зв'язку із активних впровадженням нових репродуктивних технологій в акушерстві та вивченням питань непліддя, зростає потреба у експериментальному моделюванні цих патологій.

*Мета дослідження* – визначити спільні та відмінні морфологічні та морфометричні ознаки нормального ендометрія проліферативної фази у жінок репродуктивного віку та статевозрілих самиць щура.

*Матеріали та методи дослідження.* Проведено морфометричний аналіз ендометрія людини – 15 жінок репродуктивного віку та п'ять статевозрілих самиць щура.

*Результати дослідження та їх обговорення.* Гістологічна картина пізньої стадії проліферативного ендометрія жінок та самиць щура загалом подібні. Відмінними морфологічними ознаками ендометрія жінок були мітотично активні клітини, більша кількість по відношенню до строми залозистих компонентів, пухка строма з вогнищевою вакуолізацією, тоді як для самиць щура характерна компактна строма, залоз мало.

Морфометрично діаметр залоз ендометрію щура становив  $39,50 \pm 7,46$  мкм, що є меншим за значенням в порівнянні із залозами ендометрія людини –  $43,73 \pm 13,80$  мкм ( $p=0,075$ ). В щура спостерігається менша кількість залоз ендометрія, в порівнянні із ендометрієм людини. Так, у щура показник співвідношення площі перерізу залоз до площі перерізу ендометрія – 4,80%, в людини – 10,21%, відповідно ( $p<0,001$ ).

*Висновки.* Діаметр залоз ендометрія щура є меншим, у порівнянні із ендометрієм людини, різниця не є статистично достовірною. Товщина стінки залоз ендометрія щура є достовірно меншою за товщину стінки залоз ендометрія людини. Співвідношення площі перерізу залоз до ендометрія щура є достовірно меншим за аналогічний показник у людини.

**Ключові слова:** ендометрій, проліферація, проеструс, маткова залоза, залозисто-стромальне співвідношення, площа залоз ендометрія, морфометрія.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Стаття є фрагментом планової науково-дослідницької роботи кафедри патологічної анатомії та судової медицини Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького «Вивчення патоморфологічних особливостей захворювань щитоподібної залози, серцево-судинної, травної, сечовидільної та репродуктивної систем і перинатального періоду з метою удосконалення їх морфологічної діагностики». № державної реєстрації: 0118000100; шифр: ІН.07.00.0001.18. Терміни виконання 2018-2022 рр.

**Вступ.** При гістологічному дослідженні ендометрія жінок одним із важливих факторів, який потрібно враховувати, є морфологічні зміни впродовж менструального циклу, що відбуваються у слизовій оболонці матки в нормі. Відомо, що паренхіматозним компонентом функціонального шару матки є маткова залоза, що включає власне просвіт залози та її епітелій. Епітеліально-стромальні взаємовідносини у слизовій матки забезпечують нормальне її функціонування [3]. Застосування сучасної комп'ютерної та телевізійної техніки дало поштовх успішному розвитку нового напрямку – комп'ютерної морфометрії – вивченню на математичній основі об'єктивних закономірностей просторово-часової організації морфологічних об'єктів [13].

Медико-біологічні дослідження в усьому світі прийнято застосовувати на піддослідних тваринах. Відомим є той факт, що анатомія органів щура має певну схожість із органами людини, тому, найчастіше в останні роки використовують саме цю експериментальну біологічну модель [12]. Відомо, що для моделювання різних клінічних ситуацій в

експериментах більшість науковців використовують піддослідних тварин, зокрема щурів. В зв'язку із активних впровадженням нових репродуктивних технологій в акушерстві та вивченням питання причин непліддя, зростає потреба у експериментальному моделюванні цих патологій [6,9]. Для цього можуть використовуватися репродуктивних органів самиць щура [1,4]. Проте проведення порівняння морфологічної картини нормального ендометрія щурів та жінок практично не проводилося.

**Мета дослідження.** Визначити спільні та відмінні морфологічні та морфометричні ознаки нормального ендометрія проліферативної фази у жінок репродуктивного віку та статевозрілих самиць щура.

**Матеріали та методи дослідження.** Проводили морфометричний аналіз гістопрепаратів ендометрія людини – 15 жінок репродуктивного віку, та ендометрію щура – п'ять статевозрілих білих безпородних самиць щура. Забір ендометрія виконано у проліферативну фазу маткового циклу жінок та фазу проєструса тварини. Матковий цикл піддослідних тварин визначали на підставі щоденного цитологічного вивчення вагінальних мазків протягом двох тижнів. Відбирали тварин з регулярними 4–5-денними естральними циклами [8], та отримували підтвердження фази проліферації патоморфологічно.

Всі жінки були репродуктивного віку, із клінічно нормальним менструальним циклом. Середній вік жінок становив  $32 \pm 10$  років. Забір ендометрія проводився із діагностичною метою на 21-26 день циклу. Дослідження проведено з дотриманням основних біоетичних положень Конвенції Ради Європи про права людини та біомедицину (від 04.04.1997 р.), Гельсінської декларації Всесвітньої медичної асоціації про етичні принципи проведення наукових медичних досліджень за участю людини (1964–2008 рр.), а також наказу МОЗ України № 690 від 23.09.2009 р.

Дослідження проводились на самицях білих щурів, віком 6,5- 8,5 місяця, вагою 180-250 г, загальною кількістю п'ять тварин. Умови утримання тварин та виведення з експерименту відповідали вимогам, що викладені в положеннях «Європейської конвенції про гуманне ставлення до лабораторних тварин» (Страсбург, 1985), «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених п'ятим національним конгресом з біоетики (Київ, 2013) [2, 10]. Забір матеріалу для дослідження проводився шляхом знекровлення тварин після введення внутрішньоочеревинно тіопенталу натрію. Тканину ендометрію фіксували у 10% формаліні. Для виготовлення гістологічних препаратів зразки зневоднювали шляхом проведення по

батареї із етилового спирту наростаючої концентрації та заливалися в парафін з проміжним проведенням у спирт-ксилолі і ксилолі. Для морфометрії, зрізи товщиною 3  $\mu\text{m}$  забарвлювалися гематоксилін-еозином. Проводився замір та аналіз наступних параметрів – діаметр залоз ендометрія, товщина стінки залоз, співвідношення площі перерізу залоз до площі ендометрія. Препарати досліджували із використанням мікроскопу Meiji 4300 LED, об'єктивами  $\times 10$  та  $\times 40$ , окуляр  $\times 10$ . Фотографували за допомогою фотоапарату Canon 550D з перехідником MA150/50 та адаптером MA986 із збільшенням  $\times 1.9$ , калібровочні знімки для проведення морфометрії виготовлено за допомогою слайду Meiji MA285. Всі подальші дослідження проводилися виключно із первинними, нередагованими знімками формату Jpeg роздільною здатністю  $5184 \times 3456$ . Заміри лінійних показників (діаметр залоз та товщина стінки) проводилися із використанням програми ImageJ ver.1.48u [11] з використанням інструменту "straight line" [14]. Визначення співвідношення перерізів проводилось із допомогою програмного забезпечення Stepanizer ver.2.28 [15] із використанням тестової сітки на 144 та 36 точок. Результати замірів зберігались у формі електронних таблиць із подальшим аналізом з використанням Microsoft Office Excel 2016 та програмного забезпечення для статистичної обробки даних SOFA v.1.4.6. [13].

Для перевірки відповідності розподілу даних нормальному розподілу використовували аналіз показників ексцесу, асиметрії та аналіз гістограми розподілу. Для представлення даних використовувалось середнє та стандартне відхилення у вигляді  $M \pm SD$ , де  $M$  – середнє, а  $SD$  – стандартне відхилення. Для аналізу достовірності різниці між двома групами показників використовували  $t$  критерій для непов'язаних вибірок. Для визначення достовірності різниці параметрів співвідношення (співвідношення площі перерізу залоз до площі перерізу ендометрію) використовували таблицю частот (таблицю  $2 \times 2$ , таблицю спряженості) та критерій ксі-квадрат Пірсона (хі-квадрат,  $\chi^2$ ). Рівень достовірності встановлений на рівні  $p < 0,05$ .

**Результати дослідження та їх обговорення.** В гістологічних препаратах матки жінок, що були отримані в проліферативну фазу менструального циклу у двох випадках зустрічався ендометрій ранньої фази проліферації, у трьох – середньої фази проліферації та у 10 – пізньої фази проліферації. Морфометричному аналізу підлягав ендометрій пізньої фази проліферації, оскільки він був найінформативнішим.

Гістологічна картина пізньої фази проліферативного ендометрія жінок була наступною. Спостерігалось потовщення функціонального шару та

втрата його стратифікації. Залози ендометрія на поперечному перерізі мали переважно округлу форму, зустрічались звивисті, вистелені високим циліндричним епітелієм з рівними апікальними краями, що щільно розташовувались. Ядра деяких клітин – мітотично активні, з ядерним щільним хроматином, місцями зустрічались маленькі ядерця. Строма ендометрію – пухка, вакуолізована, визначалися один – два перерізи помірно звивистих тонкостінних артерій.

Морфометрично діаметр залоз коливався в межах 28,29 – 70,29 мкм при значенні IQR=21,94. Товщина стінки рівномірна і її значення становить 15,02±3,61 мкм. Співвідношення площі перерізу залоз до площі перерізу паренхіми є рівномірним протягом зразків і коливається в межах від 7% до 13% із середнім значенням 10%.

Зразки ендометрія самиць щура (п'ять випадків) відповідали стадії проеструсу. Ця фаза у самиць щурів прирівнюється проліферативній стадії маткового циклу людини [8]. Зважаючи на незначну кількість морфологічних описів ендометрія самиць щура у науковій літературі, ми опиралися під час опису тканини ендометрія на власні дослідження.

Гістоморфологічна картина ендометрія тварин була наступною. Порожнина матки була вистелена високим циліндричним епітелієм, клітини якого мали ознаки секреторної активності. Маткові залози – трубчасті будови, звивисті на зрізах, правильної округлої форми, у невеликій кількості. Мітотична активність клітин, на відміну від ендометрія жінок, не проявлялася. Строма була представлена пухкою сполучною тканиною, компактна, спостерігалися один – два поперечних зрізи судин із тонкими стінками.

Морфометричні показники ендометрія самиць щура стадії проеструсу були такими: на зразках гістологічних препаратів ендометрія щура залози переважно правильної округлої форми, розташовані рівномірно. Діаметр залоз функціонального шару матки щура становить 39,50±7,46 мкм. Це є меншим за значенням в порівнянні із залозами ендометрія людини – 43,73±13,80 мкм. Хоча встановлена різниця не була статистично достовірною –  $p=0,075$  при значенні  $t=1,80$ . Однак варіативність діаметрів залоз щура є меншою, що підтверджується як значенням стандартного відхилення, так і діапазоном між максимальним та мінімальним значенням, що становить 42,00 мкм у людини та 34,56 мкм у щура. Менше значення товщини стінки залоз, що становило у щура 11,84±2,36 мкм при значенні цього показника у людини 15,02±3,61 мкм, було статистично достовірним –  $p<0,001$  при значенні  $t=5,33$  (таблиця).

Щодо кількості залоз, то візуально в препараті самиць щура спостерігається менша кількість залоз

**Таблиця** – Статистичні показники морфометрії залоз ендометрія людини та щура

Ендометрій	Діаметр залоз, мкм	Товщина стінки, мкм	Співвідношення до ендометрію, %
Людина	39,50±7,46	11,84±2,36	4,80%
Самиця щура	43,73±13,80	15,02±3,61	10,21%
Результати перевірки достовірності	$p=0,075$ , $t=1,80$	$p<0,001$ , $t=5,33$	$p<0,001$ , $\chi^2=17,26$

*Примітки:*  $p$  – точне значення  $p$ ,  $t$  – точне значення  $t$  для незалежних груп,  $\chi^2$  – точне значення критерію ксі-квадрат Пірсона.

ендометрія, в порівнянні із зразками ендометрія жінки. Це підтверджується показниками співвідношення площі перерізу залоз до площі перерізу ендометрія. Так, у самиці щура такий показник становив 4,80%, а у препаратах людини 10,21% відповідно. Ця різниця була статистично достовірною –  $p<0,001$  при точному значенні критерію ксі-квадрат Пірсона 17,26.

Кількість залоз на зрізі ендометрія самиць щура, згідно аналізу наукової літератури, залежить від стадії маткового циклу тварини [5, 8]. На стадії проеструсу кількість залоз у ендометрію тварин незначна, але вони мають виражену звивистість, яка наростає із початком фази еструса, що близька до фізіологічної фази секреції у ендометрію людини. Так, деякі автори описують у своїх роботах ендометрій щура у цій фазі, як скупчення залозистих структур по типу грона винограду [7]. Отже, доцільним є проведення порівняльного аналізу зразків ендометріїв фізіологічної секреторної фази людини та ендометрія фази еструса піддослідних тварин.

Отримані дані свідчать про недостовірну різницю основних морфометричних показників залоз слизової матки людини та щура в проліферативну фазу менструального циклу в нормі. Це дозволяє стверджувати, що експериментальні роботи на самицях щурів, які проводяться із метою відтворення різних гінекологічних проблем жінок, є достовірними моделями та можуть застосовуватися для вивчення як етіологія та патогенезу, так і впливу різних лікарських форм при гінекологічній патології жінок.

**Висновки.** При використанні в якості експериментального об'єкта ендометрія самиць щурів з метою моделювання патологічних змін ендометрія людини необхідно враховувати наступне:

1. Діаметр залоз ендометрія щура є меншим, у порівнянні із ендометрієм людини, однак ця різниця не є статистично достовірною.
2. Товщина стінки залоз ендометрія щура є достовірно меншою за товщину стінки залоз ендометрія людини.

3. Співвідношення площі перерізу залоз до ендометрія у щура є достовірно меншим за показник співвідношення площі перерізу залоз до ендометрія у людини, що може свідчити про їх меншу кількість.

**Перспективи подальших досліджень.** Потребує подальшого проведення морфометричних співставлень ендометрія секреторної фази людини та

ендометрія фази еструса піддослідних тварин з метою створення повної картини морфометрії нормального ендометрію експериментальних тварин в різні фази менструального циклу. Це допоможе адекватно оцінювати результати експериментальних моделей різних гінекологічних та акушерських патологій.

### Referens

1. Reznikova OG, Tarasenko LV, Sinicyn PV, ta in. Antyestrogenna aktyvnist fitopreparatu Tazalok. Rezultaty eksperimentalnogo doslidzhennya. *Reproduktivnaya endokrinologiya*. 2012; 1(3): 90–2. [Russian]
2. *Yevropejska konvenciya pro zaxyst xrebetnyx tvaryn, shcho vykorystovuyutsya dlya doslidnyx ta inshyx naukovyx cilej*. Strasburg, 18 bereznya 1986 roku: oficijnyj pereklad [digital resource]. [Ukrainian]
3. Kondrikov NY. *Patologiya matky*. M: Prakticheskaya medicyna; 2008. 334 p. [Russian]
4. Kocymbas GI, Samsonyuk IM, Shkil MI. Vidtvoryvalna zdatnist i strukturno-funkcionalnyj stan matky shhuriv, yaki spozhyvaly kormy z 20% vmistom GM-soyi. *Naukovyj visnyk LNUVMBT imeni S.Z. Gzhyczkogo*. 2017; 19(73): 126-30. [Ukrainian]
5. Kuziv IYa, Gerasymuk IYe. Cytologichna charakterystyka vaginalnyx mazkiv samok bilyx shhuriv z modelovanyx ozhyrinyam ta alimentarnoyu dystrofiyeyu. *Visnyk pytan biologiyi ta medycyny*. 2011; 1(87): 90-3. [Ukrainian]
6. Kuzmina IYu, Zhulikova MV. Stan edometriya i yayechnykh shhuriv pry eksperimentalnomu modelyuvanni syndromu polikistoznyx yayechnykh na tli postijnyx xolodovyx vplyviv. *Ukrayinskyj zhurnal medycyny, biologiyi ta sportu*. 2018; 3(3): 25-9. [Ukrainian] <https://doi.org/10.26693/jmbs03.03.025>
7. Lymar LYe, Lymar NA. Morfologichni zminy v statevyx organax statevozrylyx samok bilyx shhuriv za umov eksperimentalnogo xronichnogo toksychnogo gepatytu *Visnyk naukovyx doslidzen*. 2016; 3: 101-3. [Ukrainian]
8. Lysova AN, Zarubina EG, Belyakov VN. Vliyaniye Kiss-peptina na estralnyj cykl krysa. *Morfologicheskije vedomosti*. 2014; 2: 34–40. [Russian]
9. Patent 2571896 RU, MPK G09B23/28. Sposob modelirovaniya zhenskogo anovulyatornogo besplodiya na kryсах / Lysov NA, Zarubina EG, Lysova AN. (RU); zayavitel i patentoobladatel Lysov NA, Zarubina EG, Lysova AN (RU). № 2005114573/14; zayavl. 19.06.2014; opubl. 25.01.2015, FIPS. [Russian]
10. *Zakon Ukraine № 3447-IV 21.02.2006*. Pro zaxyst tvaryn vid zhorstokogo povodzhennya: [digital resource]. Verhovna Rada Ukrainy. Oficijnyj veb-sajt. Available from: <http://zakon.rada.gov.ua/cgi-bin/laws/main.cgi?nreg=3447-15>. [Ukrainian]
11. Abramoff MD, Magalhães PJ, Ram SJ. Image processing with Image J. *Biophotonics Int*. 2004; 11(7): 36-42.
12. Kehler S, Ashford K, Cho M, Dekker R. Experience of Preeclampsia and Bed Rest: Mental Health Implications. *Issues Ment Health Nurs*. 2016; 37(9): 3–8. PMID: 27322754. DOI: 10.1080/01612840.2016.1189635
13. Johnson LR, Karunakaran UD. How to Choose the Appropriate Statistical Test Using the Free Program “Statistics Open For All” (SOFA). *Annals of Community Health*. 2014; 2(2): 54–62.
14. Schneider CA, Rasband WS, Eliceiri KW. NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. *Nat Methods*. 2012; 9(7): 671–5. PMID: 22930834. PMCID: PMC5554542
15. Tschanz S, Burri P, Weibel E. A simple tool for stereological assessment of digital images: the STEPanizer. *J Microsc*. 2011; 243(1): 47-59. PMID: 21375529. doi: 10.1111/j.1365-2818.2010.03481

УДК 612.444-06:618

### МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ЭНДОМЕТРИЯ У ЖЕНЩИН РЕПРОДУКТИВНОГО ВОЗРАСТА И САМОК КРЫСЫ: СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МОРФОМЕТРИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ

**Кузык Ю. И., Чорненко А. Н., Логаш М. В.**

**Резюме.** В связи с активным внедрением новых репродуктивных технологий в акушерстве и изучением вопроса бесплодия, растет потребность в экспериментальном моделировании этих патологий.

**Цель исследования** – определить общие и отличительные морфологические и морфометрические признаки нормального эндометрия пролиферативной фазы у женщин репродуктивного возраста и половозрелых самок крысы.

**Материалы и методы исследования.** Проведено морфометрический анализ эндометрия человека – 15 женщин репродуктивного возраста и пять половозрелых самок крысы.

**Результаты исследования и их обсуждение.** Гистологическая картина поздней стадии пролиферативного эндометрия женщин и самок крысы в общем похожи. Отличительными морфологическими признаками эндометрия женщин были митотически активные клетки, большее количество по отношению

к строма железистых компонентов, рыхлая строма с очаговой вакуолизацией, тогда как для самок крысы характерна компактная строма, желез мало.

Морфометрически диаметр желез эндометрия крыс составил  $39,50 \pm 7,46$  мкм, что является меньшим по значению в сравнении с железами эндометрия человека –  $43,73 \pm 13,80$  мкм ( $p = 0,075$ ). У крыс наблюдается меньшее количество желез эндометрия, по сравнению с эндометрием человека. Так, у крыс показатель соотношения площади сечения желез к площади сечения эндометрия – 4,80%, у человека – 10,21%, соответственно ( $p < 0,001$ ).

**Выводы.** Диаметр желез эндометрия крысы является меньшим, по сравнению с эндометрием человека, разница не является статистически достоверной. Толщина стенки желез эндометрия крысы является достоверно меньше толщины стенки желез эндометрия человека. Соотношение площади сечения желез к эндометрия крысы является достоверно меньше аналогичного показателя у человека.

**Ключевые слова:** эндометрий, пролиферация, проэструс, маточное железа, железисто-стромальное соотношение, площадь желез эндометрия, морфометрия.

UDC 612.444-06:618

### Morphological Features of Endometrium in Women of Reproductive Age and Female Rats: Comparative Characteristic of Morphometric Study

*Kuzyk Yu. I., Chornenka G. M., Logach M. V.*

**Abstract.** Due to the active introduction of new reproductive technologies in obstetrics and the study of the causes of infertility, the need for experimental modeling of these pathologies is growing. However, a comparison of morphological pictures of normal endometrium in rats and women was practically not carried out.

*The purpose of the study* was to conduct morphological parallels and to determine common and distinct structural changes in the uterine mucosa in the proliferation phase. To establish the peculiarities of the morphometric parameters of the stromal and epithelial components of the normal endometrium of the proliferative phase in women of reproductive age and female rats.

*Material and methods.* A morphometric analysis of human endometrium of the proliferative phase was conducted in 15 women of reproductive age, and 5 female rats of the proestrus phase of the animal. Histologic coloration of sections was done with the help of hematoxylin-eosin. The main morphometric parameters were the diameter of the endometrium glands, the thickness of the glands wall, the ratio of the cross section area of the glands to the area of the endometrium.

*Results and discussion.* The histological picture of the late stage of proliferative endometrium of females and female rats had the following characteristics: thickening of the functional layer with loss of stratification. The endometrial glands in the cross-section had a generally rounded form, longitudinal-vortex, lined with a high cylindrical epithelium with even apical edges. There was one or two sections of the verticular thin-walled arteries in the stroma. The distinctive morphological features of women's endometrium were mitotic cells, a large number in relation to the stroma of the glandular components, loose stroma with focal multiple vacuoles, whereas for female rats there was a characteristic stroma, and glandular components were few.

The morphometric indices of endometrium when compared to them had the following features. The glands diameter of the functional layer of the rat's uterus was  $39.50 \pm 7.46$   $\mu\text{m}$ , which was less than the human endometrium glands –  $43.73 \pm 13.80$   $\mu\text{m}$  ( $p = 0.075$ ). Visually, there is a smaller number of endometrium glands in rats compared with the human endometrium, as evidenced by the ratio of the cross-sectional area of the glands to the endometrium area. Thus, in rats this indicator was 4.80%, and in human preparations it was 10.21%, respectively ( $p < 0.001$ ).

*Conclusions.* The rat's endometrium diameter is less than that of a human endometrium, but this difference is not statistically significant. The thickness of the rat's endometrium wall is significantly lower than the human endometrial glands wall thickness. The ratio of the cross-sectional area of the glands to rat's endometrium is significantly lower than the ratio of the cross-sectional area of the glands to human endometrium, which may indicate a smaller number.

**Keywords:** endometrium, proliferation, proestrus, uterine gland, glandular-stromal ratio, endometrial glands, morphometry.

*The authors of this study confirm that the research and publication of the results were not associated with any conflicts regarding commercial or financial relations, relations with organizations and/or individuals who may have been related to the study, and interrelations of coauthors of the article.*

Стаття надійшла 31.07.2018 р.

Рекомендована до друку на засіданні редакційної колегії після рецензування