

## АНОТАЦІЯ

*Ковальчук К.С.* Особливості морфогенезу яєчників потомства щурів після введення прогестерону самкам під час вагітності (анатоמו-експериментальне дослідження). – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття ступеня доктора філософії за спеціальністю 222 «Медицина». – Запорізький державний медичний університет МОЗ України, Запоріжжя, 2020.

Запорізький державний медичний університет МОЗ України, Запоріжжя, 2020.

Дисертаційна робота присвячена дослідженню особливостей будови яєчників потомства щурів після експериментального моделювання впливу прогестерону шляхом його внутрішньом'язового введення самкам із 15-ої по 18-ту добу вагітності за допомогою анатомічних, морфометричних, гістологічних, імуногістохімічних та статистичних методів дослідження.

При дослідженні динаміки масо-ростових показників тварин встановлено, що впродовж перших трьох місяців постнатального розвитку маса тіла контрольних та експериментальних тварин поступово зростає зі збільшенням строку спостереження, досягаючи максимальних значень наприкінці строку дослідження. У тварин, народжених від самок із порушеним гормональним статусом, із 1-ої по 9-ту добу життя включно, маса тіла вірогідно перевищує контрольні значення, а на 14-ту добу різниця між показниками маси нівелюється. У тварин експериментальної групи встановлено, тенденцію щодо достовірного відставання показників маси тіла від групи контролю, починаючи з 30-ої доби і до кінця терміну дослідження ( $102,47 \pm 2,11$  г та  $123,86 \pm 1,76$  г, відповідно). у потомства тварин всіх груп експериментального дослідження виявлено поступове поступове збільшення потилично-куприкової довжини з максимальними її значенням на 90-ту добу життя, без вірогідних відмінностей

( $10,91 \pm 0,15$  см – у тварин групи контрольних та  $10,32 \pm 0,17$  см - у експериментальних тварин, відповідно). Однак, на 14-ту добу життя у експериментальних щурів показник потилично-куприкової довжини є вірогідно вищим від контрольних значень ( $5,58 \pm 0,13$  см та  $5,18 \pm 0,23$  см відповідно). У групі експериментальних тварин на 1-шу та 9-ту добу життя після народження простежується вірогідне перевищення показників індексу маси тіла (ІМТ) над контрольними значеннями. На 45-ту добу життя, навпаки, відмічається вірогідне відставання показника ІМТ експериментальної групи. Однак, починаючи із 60-ої доби і до кінця строку спостереження різниця ІМТ у групах тварин нівелюється ( $1,0 \pm 0,02$  г/см<sup>2</sup> та  $0,96 \pm 0,07$  г/см<sup>2</sup> відповідно).

Вперше встановлено характерне порушення процесу формування пулу примордіальних фолікулів у потомства тварин, народжених від самок, яким вводили ін'єкції прогестерону з 15-ої по 18-ту добу вагітності. На 1-шу добу після народження у експериментальних тварин відносна площа, яку займають сформовані примордіальні фолікули, є меншою від цього показника у контрольних тварин ( $34,34 \pm 1,14$  % проти  $36,45 \pm 0,67$  % відповідно). При цьому, вірогідної різниці між показниками відносної площі, яку займають кластери, у групах експериментального дослідження не виявлено. На 3-тю добу життя у групі тварин після впливу прогестерону у період внутрішньоутробного розвитку, на відміну від контрольних щурів, присутні незруйновані кластери, що займають  $4,31 \pm 0,22$  % площі органу відповідно. У тварин усіх досліджуваних груп пул примордіальних фолікулів поступово зменшується та досягає наприкінці терміну спостереження  $2,62 \pm 0,11$  % у експериментальних щурів, що вірогідно менше, ніж у тварин контрольної групи ( $4,0 \pm 0,57$  %). Аналогічна тенденція щодо зменшення відносної площі виявлена й у первинних фолікулах. Однак, наприкінці 3-го місяця життя різниця між показниками відносної площі тварин як експериментальної та контрольної груп нівелюється ( $2,98 \pm 0,22$  % та  $3,24 \pm 0,18$  % відповідно). Динаміка відносної площі, яку

займають вторинні фолікули у тварин контрольної групи, носить хвилеподібний характер. Починаючи з 9-ої доби життя і до кінця 2-го місяця життя поступово збільшується, а на 90-ту добу життя зменшується майже вдвічі (від  $31,22 \pm 0,37$  % до  $13,13 \pm 0,35$  %). Щодо тварин, народжених від самок із порушеним гормональним статусом, то для них тенденція до зростання відносної площі зберігається до 45-ої доби життя включно, що є вірогідно меншою від групи контролю ( $22,68 \pm 0,10$  % проти  $28,89 \pm 0,39$  % відповідно). Вищеописана тенденція щодо відставання показника відносної площі вторинних фолікулів від контрольних значень зберігається до кінця терміну дослідження. У тварин експериментальної групи на 9-ту добу постнатального життя з'являються пухирчасті яєчникові фолікули, в той час як у контрольній групі їх поява спостерігається на 21-шу добу експерименту. Більш рання поява пухирчастих фолікулів може вказувати на ймовірне порушення темпів та етапності фолікулогенезу після впливу прогестерону під час вагітності. Також, у період з 21-ої по 60-ту добу життя, у експериментальної групи щурів відмічається вірогідне превалювання показника відносної площі пухирчастих фолікулів. Зазначимо, що до кінця строку спостереження цей показник навпаки відстає від контрольних значень ( $4,13 \pm 0,12$  % та  $5,79 \pm 0,36$  % відповідно). Наприкінці 3-го місяця життя у тварин усіх груп досліджування починаються циклічні зміни в яєчнику, що підтверджується появою третинних (антральних) фолікулів. При цьому відмічається різниця між показниками відносної площі цих фолікулів із тенденцією до відставання цього показника у групі експериментальних тварин порівняно із контрольною групою ( $9,26 \pm 0,10$  % проти  $11,69 \pm 0,37$  %). Окрім третинних фолікулів, певний відсоток площі яєчників займають циклічні жовті тіла – у групі експериментальних тварин показник їх відносної площі є статистично вірогідно більшим від аналогічного показника щурів контрольної групи ( $14,28 \pm 0,34$  % проти  $11,39 \pm 0,23$  % відповідно). Досліджено динаміку абсолютної площі вторинних, пухирчастих та

третинних фолікулів. Встановлено, що з 9-ої доби та до кінця 2-го місяця життя включно, абсолютна площа вторинних фолікулів експериментальної групи тварин превалює над показниками щурів контрольної групи, однак наприкінці терміну життя різниця нівелюється ( $5153,05 \pm 31,67$  мкм<sup>2</sup> та  $5099,30 \pm 25,35$  мкм<sup>2</sup> відповідно). Схожа динаміка є характерною і для пухирчастих фолікулів, яка спостерігається з 21-ої доби життя. Не встановлено вірогідної різниці при порівнянні даних абсолютної площі третинних фолікулів, щурів експериментальної та контрольної груп ( $49384,45 \pm 85,36$  мкм<sup>2</sup> та  $49217,24 \pm 117,95$  мкм<sup>2</sup> відповідно). Доведено, що показники відносної площі пухирчастих фолікулів корелюють із показниками їх абсолютної площі. Виявлено співвідношення площ, які займають фолікули всіх типів та сполучна тканина. Встановлено, що зі збільшенням строку життя у потомства тварин всіх досліджуваних груп поступово вичерпується фолікулярний басейн, однак паралельно зростає відсоток площі, який припадає на сполучну тканину. При цьому, найбільш виражені ці зміни спостерігаються наприкінці терміну дослідження, причому у потомства тварин, народжених від самок, які отримували розчин прогестерону у період вагітності, визначається вірогідне превалювання показника відносної площі сполучної тканини порівняно із групою контролю ( $48,19 \pm 0,34$  % та  $40,42 \pm 0,25$  %, відповідно). Досліджено вміст колагенових волокон III типу у тварин експериментальної групи дослідження на 1-шу, 3-тю, 30-ту та 45-ту добу життя – спостерігається збільшення цього показника над контрольними значеннями. Встановлено, що у потомства тварин після введення прогестерону відмічається вірогідне відставання показника відносної площі, яку займають кровоносні судини протягом усього строку спостереження ( $9,59 \pm 0,13$  % проти  $7,12 \pm 0,11$  % відповідно). При дослідженні клітинного складу сполучної тканини яєчників у всіх групах досліджування груп встановлено поступове зростання абсолютної кількості фіброцитів та зменшення фібробластів на умовній одиниці площі

(у.о.п). Наприкінці терміну дослідження у тварин експериментальної групи абсолютна кількість фібробластів дорівнює  $38,70 \pm 0,1$  на у.о.п., що є вірогідно меншим від контрольної групи ( $34,30 \pm 0,14$  клітин на у.о.п.). Зазначено, що абсолютна кількість на у.о.п., навпаки, превалює над контрольними значеннями ( $79,25 \pm 0,07$  проти  $64,24 \pm 0,11$  на у.о.п.). У потомства тварин, які отримували прогестерон у період внутрішньоутробного розвитку, спостерігається поступове виснаження популяції макрофагоцитів у сполучній тканині порівняно із контролем ( $5,43 \pm 0,03$  та  $8,04 \pm 0,10$  клітин на у.о.п.). Уперше досліджено абсолютну кількість макрофагоцитів у тека-оболонці вторинних, пухирчастих та третинних фолікулів. З'ясовано, що у тварин експериментальної групи показник кількості макрофагоцитів на у.о.п у тека-шарі вторинних та третинних фолікулів вірогідно менше від контрольних значень, у той час як для пухирчастих фолікулів є характерною зворотня тенденція. Встановлено, що експериментальне зниження кількості макрофагоцитів у тека-оболонці фолікулів, зважаючи на їх функціональне значення, може мати негативний вплив на процеси овуляції. У потомства тварин, народжених від самиць із порушеним гормональним статусом, спостерігається хвилеподібна динаміка абсолютної кількості лімфоцитів із тенденцією до збільшення наприкінці терміну дослідження, однак із відставанням від групи контролю ( $7,14 \pm 0,14$  проти  $7,44 \pm 0,35$  клітин на у.о.п.). У експериментальних тварин на 1-шу добу після народження відмічається статистично достовірне зменшення вмісту тучних клітин було, а на 3-тю добу – зростання абсолютної кількості їх на у.о.п. порівняно із контрольними значеннями. На нашу думку, це пояснюється участю тучних клітин у процесі руйнування зародкових гнізд та формуванні примордіальних фолікулів. За допомогою лектингістохімічного методу підраховано абсолютну кількість на у.о.п. PNA+-лімфоцитів та дендритних клітин в сполучній тканині яєчників. Встановлено, що абсолютна кількість PNA+-лімфоцитів хвилеподібно змінюється протягом строку спостереження, із

максимальними значеннями на 1-шу добу після народження та протягом перших трьох тижнів життя. Однак на 1-шу добу у тварин потомства експериментальної групи відмічалось вірогідне відставання від контрольних показників ( $3,12 \pm 0,10$  проти  $3,65 \pm 0,31$  клітин на у.о.п.), а наприкінці 3-го місяця життя різниця показників абсолютної кількості цих клітин у групах нівелюється. У тварин контрольної групи максимальна кількість дендритних клітин у сполучній тканині на у.о.п. спостерігається наприкінці терміну дослідження. При цьому у потомства експериментальних тварин відмічається вірогідне відставання від контролю ( $4,16 \pm 0,65$  проти  $6,74 \pm 0,92$  клітин на у.о.п.). При вивченні особливостей клітинного складу жовтих тіл яєчників, встановлено вірогідне відставання абсолютної кількості макрофагоцитів та дендритних клітин у тварин експериментальної групи, причому кількість останніх відстає порівняно із групою контролю майже вдвічі ( $3,23 \pm 0,61$  проти  $6,52 \pm 1,07$  клітин на у.о.п.) Вважаємо, що вищезазначені зміни можуть впливати на процеси лютеогенезу та повноцінного функціонування жовтого тіла. За допомогою імуногістохімічного методу досліджено рівень експресії до білків p53 та bcl-2 у фолікулярних клітинах. У потомства тварин, народжених від самок, які отримували прогестерон із 15 по 18 добу вагітності встановлено інтенсивний рівень експресії p53 (2 бали) у пухирчастих фолікулах, також помірна експресія (2 бали) p53 та слабка експресія (1 бал) bcl-2 у клітинах гранульози примордіальних та первинних фолікулів. На електронно-мікроскопічному рівні мікроскопії в яйцеклітинах експериментальних тварин групи спостерігаються ознаки пошкодження мітохондрій.

*Ключові слова: яєчники, морфогенез, щури, прогестерон, фолікули, сполучна тканина.*

## НАУКОВІ ПРАЦІ, ОПУБЛІКОВАНІ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Григор'єва О.А., Ковальчук К.С. Особливості внутрішньої будови яєчників потомства щурів після введення прогестерону під час вагітності. *Вісник наукових досліджень*. 2018. № 2 (91). С. 125 – 128. *(Дисертант виконав дослідження та проаналізував отримані результати)*.
2. Григор'єва О.А., Ковальчук К.С. До питання про класифікацію фолікулів яєчників щурів. *Морфологія*. 2018. Т. 12, № 4. С. 116 – 121. *(Дисертант самостійно проаналізував джерела літератури та інтерпретував отримані результати)*.
3. Ковальчук К.С. Особливості розподілу та динаміки клітин сполучної тканини яєчників потомства щурів після введення прогестерону під час вагітності. *Вісник проблем біології та медицини*. 2019. Вип.1, Т.2 (149). С. 277 – 281.
4. Kovalchuk K.S. Dynamics of ovaries' follicles of rats offspring during the first three month of postnatal life in norm and after introduction of progesterone during pregnancy. *Deutscher Wissenschaftsherold*. 2019. № 3. P.34-39.
5. Волошин М.А., Тополенко Т.А., Зінич О.Л., Ковальчук К.С. Неприятливий вплив прогестерону на розвиток репродуктивних органів потомства. *Фундаментальні та клінічні аспекти фармакології: тези доп. всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. уч., пам'яті професора В.В. Дунаєва, м. Запоріжжя, 24 – 25 листопада 2016 р. Запоріжжя, 2016. С. 32 – 33. (Дисертант виконав дослідження та аналізував отримані результати)*.
6. Волошин М.А., Ковальчук К.С. Особливості динаміки маси тіла потомства щурів після введення прогестерону вагітним самкам. *Сучасні аспекти медицина та фармації: тези доп. всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. уч., м. Запоріжжя, 11 – 12 травня 2017 р. Запоріжжя, 2017. С. 24. (Дисертант аналізував отримані результати)*.

7. Ковальчук К.С., Тополенко Т.А. Динаміка маси тіла потомства самок щурів у нормі та після дії прогестерону під час вагітності. *Актуальні питання клінічної медицини: тези за матер. XI всеукр. наук.-практ. конфер. мол. вч., м. Запоріжжя, 27 жовтня 2017 р. Запоріжжя, 2017. С. 32-33. (Дисертант виконав дослідження та аналізував отримані результати).*
8. Ковальчук К.С., Булига В.С., Григор'єва О.А. Особливості співвідношення структур яєчників потомства щурів після введення прогестерону під час вагітності. *Здобутки клінічної та експериментальної медицини: тези доп. підсум. LXI наук.-практ. конф., м. Тернопіль, 7 червня 2018 р. Тернопіль, 2018. С. 230 – 231. (Дисертант виконав дослідження та аналізував отримані результати).*
9. Ковальчук К.С., Тополенко Т.А., Булига В.С. Особливості динаміки площі фолікулів яєчників потомства щурів після дії прогестерону під час вагітності. *Сьогодення біологічної науки: матер. II Міжнар. наук. конф., м. Суми, 9-10 листопада 2018 р. Суми, 2018. С. 203 – 204. (Дисертант виконав дослідження та аналізував отримані результати).*
10. Ковальчук К.С. Особливості динаміки і співвідношення фібробластів та фіброцитів у яєчниках потомства щурів після внутрішньоутробної дії прогестерону. *XXIII Міжнародний медичний конгрес студентів і молодих вчених: матер. конгресу, м. Тернопіль, 15 – 17 квітня 2019 року. Тернопіль, 2019. С. 294 – 295.*
11. Ковальчук К.С., Булига В.С. Особливості динаміки та співвідношення фолікулів, сполучної тканини та судинного русла яєчників потомства щурів протягом першого місяця життя після введення прогестерону у період вагітності. *Актуальні питання сучасної медицини і фармації: наук.-практ. конф. з міжнар. уч. молод. вч. та студ., м. Запоріжжя, 13 – 17 травня 2019 року. Запоріжжя, 2019. С. 10 – 11. (Дисертант виконав дослідження та аналізував отримані результати).*



12. Ковальчук К.С., Тополенко Т.А. Особливості динаміки макрофагоцитів у тека-шарі фолікулів яєчників потомства щурів після введення прогестерону під час вагітності. *VII конгрес наукового товариства анатомів, гістологів, ембріологів, топографоанатомів України: матер. конгресу, м. Одеса, 2 – 4 жовтня 2019 р. Одеса, 2019. С. 345 – 347. (Дисертант виконав дослідження та аналізував отримані результати).*