

СУМСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

СІКОРА КАТЕРИНА ОЛЕКСІЇВНА

УДК 616-091:618.14-008.6:611.018(546.47/.49+546.55/.57)(043.5)

ДИСЕРТАЦІЯ

**МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНІ ЗМІНИ В МАТЦІ
ЗА УМОВ ВПЛИВУ СОЛЕЙ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ**

222 «Медицина»

22 «Охорона здоров'я»

Подається на здобуття ступеня доктора філософії

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

_____ К.О. Сікора

Науковий керівник: Романюк Анатолій Миколайович, доктор медичних наук,
професор

Суми – 2023

АНОТАЦІЯ

Сікора К. О. Морфофункціональні зміни в матці за умов впливу солей важких металів. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії з галузі знань 22 «Охорона здоров'я» за спеціальністю 222 – «Медицина». – Сумський державний університет Міністерства освіти і науки України, Суми, 2023.

Незважаючи на численні повідомлення Всесвітньої організації охорони здоров'я та інших агентств із захисту довкілля, промисловий розвиток та бурхлива урбанізація призводять до неконтрольованого забруднення навколишнього середовища важкими металами (ВМ), що супроводжується зростанням ризиків розвитку екологічно-обумовлених порушень в організмі. При цьому, все частіше контамінацію довкілля ВМ пов'язують зі зростанням загрози погіршення репродуктивного здоров'я, де одне з провідних місць відводиться патології матки. Більш того, даних щодо використання ефективних коригуючих засобів з дезінтоксикаційними та антиоксидантними властивостями для зменшення пагубного впливу ВМ на матку все ще не існує. Враховуючи актуальність даної проблематики та складність розуміння її патогенетичних ланок, представлена дисертаційна робота зосереджена на комплексному вивченні морфофункціональних особливостей матки статевозрілих щурів за умов експериментального впливу на організм суміші солей важких металів (СВМ) та оцінці ефективності застосування вітаміну Е для корекції їх дії.

Для досягнення поставленої мети було використано тканини матки статевозрілих самиць щурів, які згідно експериментальної моделі вживали воду забруднену сумішшю СВМ (цинку, міді, заліза, марганцю, свинцю і хрому) упродовж 30-ти та 90-то днів. Для дослідження можливостей корекції їх впливу використовували вітамін Е. Додатково було сформовано групу відновлення, куди увійшли тварини на 90-ту добу після відміни дії ВМ на

організм з та без додавання до раціону вітаміна Е. Для детального вивчення та оцінки отриманих результатів було проведено мікроскопічний аналіз стінки матки щурів з використанням гістологічних, морфометричних, імуногістохімічних та імунофлюоресцентних методик, а також атомно-абсорбційне дослідження тканин та статистичну обробку даних. Такий комплексний аналіз дозволив розширити сучасні погляди на будову матки інтактних щурів, її структурні властивості, імунопрофіль і біоелементний склад, а також інтерпретувати термін-залежні особливості порушення цих показників на тлі споживання та накопичення ВМ, а також після їх відміни. Так, у дисертаційній роботі представлено узагальнення особливостей патоморфологічних змін у матці щурів за умов надлишкового впливу на організм СВМ, опис важливих діагностичних критеріїв оцінки та прогнозування їх перебігу, а також аналізу ефективності застосування вітаміну Е для зменшення виявлених порушень.

Науково-доведені результати поглиблюють розуміння варіації морфологічної та морфометричної трансформації структурних елементів органа в залежності від термінів експерименту. Так, вивчено та обґрунтовано термін-залежні гістологічні трансформації у матці щурів різного ступеню виразності та інтенсивності, які представлені гетерогенністю дистрофічних, гіперпластичних, гіпертрофічних, дегенеративно-атрофічних, дезорганізаційних, запальних та циркуляторних порушень. У той же час, аналіз гістоморфометричних параметрів вказав на виражену варіабельність динамічних змін товщини структурних елементів матки тварин як важливого індикатору змін, зумовлених дією ВМ. При цьому, різниця морфометричних показників достовірно змінювалася з пролонгацією термінів дії ВМ. Так, після 30-ти діб впливу полютантів спостерігалось ($p < 0,001$) потовщення стінки органа на 31,03 %, зокрема за рахунок слизової (на 37,84 %) та м'язової оболонки (на 20,54 %). Протилежно направленими виявилися зміни ($p < 0,001$) на 90-ту добу досліду – стоншення стінки матки на 37,99 %, за рахунок зменшення товщини ендометрію (на 40,28 %) та міометрію (на

35,28 %). Більш того, вперше описано та порівняно інтенсивність накопичення хімічних елементів на тлі експозиції сумішшю ВМ у різні терміни. Експозиція полютантами упродовж 30-ти діб супроводжувалася збільшенням ($p < 0,0001$) рівнів цинку на 34,11 %, міді – на 44,83 %, марганцю – на 38,68 %, заліза – на 61,95 %, свинцю – на 53,15 %, хрому – на 47,91 %. При цьому, пролонгація дослідження до 90-та діб призвела до динамічного зростання ($p < 0,0001$) акумуляції відповідних показників до 49,34 % для цинку, 61,08 % для міді, 63,6 % для марганцю, 86,26 % для заліза, 88,11 % для свинцю та 73,09 % для хрому. Окрім високих показників прийнятності тканини органа щурів до акумуляції ВМ на 30-ту добу експерименту (на 52,74 %, $p < 0,0001$), було також помічено тенденцію до зменшення інтенсивності їх акумуляції з пролонгацією дослідження до 90-то діб (на 74,46 %, $p < 0,0001$). Більш того, відбувається зміна порядку акумулятивного потенціалу хімічних елементів в тканині матки: $Fe > Pb > Cr > Cu > Mn > Zn$ на 30-ту добу та $Pb > Fe > Cr > Mn > Cu > Zn$ на 90-ту добу.

Вивчено особливості порушення експресії естрогенових (ЕР) та прогестеронових (ПР) рецепторів, молекул клітинної адгезії раково-ембріонального антигену 1 (МКА-РЕА1), білків теплового шоку 90 α (Hsp90 α) та супероксиддисмутази 1 (СОД1) як потенційних маркерів діагностики, що поглиблює розуміння перебігу порушень у матці щурів за умов впливу ВМ та дає можливість прогнозувати інтенсивність та ступінь відновлення після їх відміни у реадаптаційний період. Так, імунний профіль паренхіматозних та стромальних компонентів матки щурів супроводжується виразним порушенням експресії обраних біомаркерів, а їх імунореактивність залежить від терміну експерименту. Встановлено, що зміни експресії даних білків не є однонаправленими та з пролонгацією експериментального впливу ВМ можуть характеризуватися як їх інтенсифікацією, так і супресією. При цьому, лише деякі показники мають тенденцію до стабілізації у відновний період.

Вперше було проведено порівняльну характеристику ефективності використання вітаміну Е на морфологічні, морфометричні, імуногістохімічні,

імунофлуоресцентні та спектрофотометричні показники матки щурів під час модельованого впливу ВМ. Деталізовано дані про особливості зменшення та уповільнення інтенсивності і глибини патоморфологічних процесів у всі терміни дослідження, а також статистично доведено й описано роль вітаміну Е у забезпеченні резистенції матки для протидії накопичення ВМ. На основі отриманих результатів, рекомендується розглядати застосування вітаміну Е у дозі 9,1 мг/кг як ефективного засобу для зменшення акумулятивного потенціалу хімічних елементів і зниження пов'язаних з ними патологічних змін у стінці матки для розроблення експериментальних детоксикаційних протоколів і нівелювання дії ВМ (або інших токсикантів з схожим механізмом дії) на організм тварин.

Встановлено та сформовано концепцію розуміння відновних механізмів у матці щурів на 90-ту добу після відміни дії ВМ на організм, а також за умов застосування вітаміну Е у період реадаптації. Так, у відновний період було виявлено тенденцію до поступового зменшення виразності патоморфологічних змін у матці, тенденції до покращення експресії ЕР, ПР, Нsp90 α , МКА-PEA1 та СОД1, поступового зниження рівнів ВМ у тканині органа і стабілізації товщини його стінки. При цьому, інтенсивність і швидкість відновлення значно відрізнялись та переважали у тварин, яким проводилась корекція вітаміном Е.

Статистично доведено кореляційну залежність патологічних морфологічних, морфометричних, імуногістохімічних та імунофлуоресцентних індикаторів від показників акумуляції хімічних елементів та терміну їх експозиції на організм. Результати дисертаційного дослідження значно розширюють уявлення щодо особливостей діагностики перебігу та прогнозування виразності змін у різні терміни спостереження за умов негативного впливу ВМ на матку щурів. Розроблена та запатентована у співавторстві корисна модель автостейнеру з високими експлуатаційними можливостями програмного забезпечення може бути рекомендована до використання для одночасного забарвлення великої кількості предметних

скелець з біологічними зразками за обраним протоколом для різних гістологічних та гістохімічних технік у наукових та діагностичних дослідженнях. Матеріали даної роботи мають цінність для поглиблення знань при підготовці фахівців з медицини, біології, ветеринарії та екології за тематикою екологічно-обумовлених патологій органів репродуктивної системи.

Ключові слова: біоаккумуляція, біомаркери, важкі метали, відновлення, вітамін Е, гіперплазія ендометрію, атрофія ендометрію, забруднення довкілля, матка, мікроелементи, морфофункціональний стан, морфометрія, реадаптація, солі важких металів, хімічні елементи.

ABSTRACT

Sikora K.O. Morphofunctional changes in the uterus under the impact of heavy metal salts. – Qualification scientific work on the rights of the manuscript.

Dissertation for conferring the Doctor of Philosophy Degree (PhD) in the Field of study 22 «Health care», Program Subject Area 222 – «Medicine». – Sumy State University of the Ministry of Education and Science of Ukraine, Sumy, 2023.

Despite the numerous reports of the World Health Organization and other environmental protection agencies, industrial development and rapid urbanization lead to uncontrolled pollution of the environment with heavy metals (HMs), which is accompanied by an increase in the risks of developing environmentally caused disorders in the body. Simultaneously, environmental pollution with HMs is increasingly associated with the growing threat of deterioration of reproductive health, where one of the leading places is assigned to uterus pathology. Moreover, there is still no data on using effective corrective means with detoxification and antioxidant properties to reduce the harmful effects of HMs on the uterus. Given the relevance of this issue and the complexity of understanding its pathogenetic links, the presented thesis focuses on a comprehensive study of the

morphofunctional peculiarities of the uterus in sexually mature rats under the conditions of experimental exposure to a mixture of heavy metal salts (HMSs), as well as assessing the effectiveness of using vitamin E to correct their effects.

To achieve the goal, uterine tissues of sexually mature female rats were used, which, according to the experimental model, consumed water contaminated with a mixture of HMSs (zinc, copper, iron, manganese, lead, and chromium) for 30th and 90th days. Synchronously, vitamin E was utilized to study potential corrective effects. Furthermore, a recovery group was established, comprising animals examined on the 90th day after discontinuing the exposure to HMs, both with and without the inclusion of vitamin E in their diet. For a detailed study and evaluation of the obtained results, a microscopic analysis of the uterine walls of rats was conducted using histological, morphometric, immunohistochemical, and immunofluorescent techniques, as well as an atomic absorption study of tissues and statistical data processing were carried out. Such a comprehensive analysis made it possible to expand modern views on the structure of the uterus of intact rats, its structural properties, immune profile, and bioelemental composition, as well as to interpret the term-dependent features of the violation of these indicators against the background of consumption and accumulation of HMs, as well as after their cancellation. Therefore, the thesis presents a generalization of the features of the pathomorphological changes in the uterus of rats under the conditions of excessive exposure to the body of HMSs, the search for critical diagnostic criteria for evaluating and predicting their course, as well as an analysis of the effectiveness of vitamin E used to reduce the identified disorders.

Scientifically proven results deepen the understanding of the variation of the morphological and morphometric transformation of the structural elements of the organ depending on the terms of the experiment. Hence, term-dependent histological changes in the uterus of rats of various grades of expressiveness and intensity, which are represented by the heterogeneity of dystrophic, hyperplastic, hypertrophic, degenerative-atrophic, disorganizational, inflammatory and circulatory disorders, were studied and substantiated. At the same time, the

analysis of histomorphometric parameters indicated the pronounced variability of dynamic changes in the thickness of structural elements of the uterus of animals as critical disorder indicators caused by the effect of HMs. Concurrently, the difference in morphometric indicators reliably changed with the prolongation of the term of HMs action. Thus, after 30th days of exposure to pollutants, a thickening of the organ wall by 31.03 % was observed ($p < 0.001$), in particular, due to the mucous (by 37.84 %) and muscular membranes (by 20.54 %). The changes ($p < 0.001$) on the 90th day of the experiment turned out to be in the opposite direction - thinning of the uterine wall by 37.99 %, due to a decrease in the thickness of the endometrium (by 40.28 %) and myometrium (by 35.28 %). Moreover, for the first time, the intensity of the accumulation of chemical elements against the background of exposure to a mixture of HMs at different times has been described and compared. Exposure to pollutants for 30th days was accompanied by an increase ($p < 0.0001$) in the levels of zinc by 34.11 %, copper by 44.83 %, manganese by 38.68 %, iron by 61.95 %, lead by 53.15 %, chromium – by 47.91 %. At the same time, the extension of the study to 90th days led to a dynamic growth ($p < 0.0001$) of the accumulation of the relevant indicators to 49.34 % for zinc, 61.08 % for copper, 63.6 % for manganese, 86.26 % for iron, 88.11 % for lead and 73.09 % for chromium. In addition to the high rates of acceptability of the tissue of the rat organ to the accumulation of HMs on the 30th day of the experiment (on 52.74 %, $p < 0.0001$), there was a tendency to reduce the intensity of their stockpiling with the prolongation of the study up to 90th days (on 74.46 %, $p < 0.0001$). Moreover, there is a change in the order of the accumulative potential of chemical elements in the uterine tissue: Fe > Pb > Cr > Cu > Mn > Zn on the 30th day and Pb > Fe > Cr > Mn > Cu > Zn on the 90th day. The peculiarities of impaired expression of estrogen (ER) and progesterone (PR) receptors, carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule 1 (CEACAM1), heat shock proteins 90 α (Hsp90 α) and superoxide dismutase 1 (SOD1) were studied as potential diagnostic markers, which deepens the understanding of the course of disorders in the rats' uterus under the HMs impact and makes it possible to predict

the intensity and grades of recovery after their cancellation in the readaptation period. Thus, the immune profile of the parenchymal and stromal components of the rats' uterus is accompanied by a distinct violation of the expression of selected biomarkers, and their immunoreactivity depends on the duration of the experiment. It was established that the changes in the expression of these proteins were not unidirectional and could be characterized by both their intensification and suppression with the prolongation of the experimental influence of HMs. Moreover, only some indicators tend to stabilize during the recovery period.

For the first time, a comparative characteristic of the effectiveness of vitamin E using on morphological, morphometric, immunohistochemical, immunofluorescent, and spectrophotometric indicators of the rats' uterus during simulated influence of HMs was carried out. The data on the peculiarities of reducing and slowing down the intensity and depth of pathomorphological processes in all terms of the study were detailed, and the role of vitamin E was statistically proven and described in providing the resistance of the uterus to counteract the accumulation of HMs. Based on the obtained results, it is recommended to consider the vitamin E using in a dose of 9.1 mg/kg as an effective means for reducing the accumulative potential of chemical elements and decreasing the pathological changes associated with them in the uterine wall for developing experimental detoxification protocols and leveling the HMs effect (or other toxicants with a similar mechanism of action) on the animals.

The concept of understanding the recovery mechanisms in the uterus of rats on the 90th day after the cancellation of the action of HMs on the body, as well as under the conditions of the vitamin E used during the readaptation period, was established and formed. Thus, during the recovery period, a tendency to a gradual decrease in the expressiveness of pathomorphological changes in the uterus, the tendency to improve the expression of ER, PR, Hsp90 α , CEACAM1 and SOD1, a gradual decrease in the levels of HMs in the organ's tissue and stabilization of its wall thickness was revealed. At the same time, the intensity and speed of recovery

differed significantly and prevailed in animals that underwent correction with vitamin E.

The correlational dependence of pathological morphological, morphometric, immunohistochemical and immunofluorescent indicators on indicators of accumulation of chemical elements and the term of their exposure to the body was statistically proven. The results of the thesis significantly expand the understanding of the peculiarities of diagnosing the course and prediction of the expressiveness of changes in different terms of observation under the conditions of the negative impact of HMs on the rats uterus. The co-created and patented useful autostainer model with high operational capabilities of the software can be recommended for the simultaneous staining of many slides with biological samples according to the selected protocol for various histological and histochemical techniques in scientific and diagnostic studies. The materials of this work are valuable for deepening knowledge in the training of specialists in medicine, biology, veterinary medicine, and ecology on the subject of environmentally-induced pathologies of the organs of the reproductive system.

Keywords: bioaccumulation, biomarkers, heavy metals, recovery, vitamin E, endometrial hyperplasia, endometrial atrophy, environmental pollution, uterus, trace elements, morphofunctional state, morphometry, readaptation, heavy metal salts, chemical elements.

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Наукові праці, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації:

1. **Sikora K**, Lyndin M, Hyriavenko N, Lyndina Yu, Sikora V, Romaniuk A. Morphological features of the rat uterus. Pol Merkur Lekarski. 2021;XLIX(294):420-5. *(Особистий внесок: планування та реалізація експериментальної моделі, виконано цитологічний, гістологічний та імуногістохімічний аналіз препаратів, сформульовано висновки).*

2. **Сікора КО**. Морфометричні зміни товщини матки щурів після 30 днів впливу солей важких металів. Східноукраїнський медичний журнал. 2022;10(3):274-82. DOI: 10.21272/eumj.2022;10(3):274-282. *(Особистий внесок: планування та реалізація експериментальної моделі, проведено гістологічне та морфометричне дослідження зразків, здійснено статистичне опрацювання даних, сформульовано висновки).*

3. **Sikora K**, Lyndina Y, Awuah WA, Abdul-Rahman T, Chyzhma R, Hyriavenko N, Lyndin M, Sikora V, Romaniuk A. Microelement imbalance in the rat uterus after short-term heavy metals exposure. Fiziol Zh. 2022;68(6):12-7. DOI: 10.15407/fz68.06.012. *(Особистий внесок: планування та реалізація експериментальної моделі, участь у атомно-абсорбційній спектроскопії, здійснено статистичне опрацювання даних та узагальнення матеріалу, сформульовано висновки).*

4. **Sikora K**, Lyndina Y, Hyriavenko N, Awuah AW, Abdul-Rahman T, Lyndin M, Sikora V, Romaniuk A. Heavy metals effect on estrogen and progesterone receptors expression in the rat uterus. Azerbaijan medical journal. 2022;4:164-9. DOI: 10.34921/amj.2022.4.026. *(Особистий внесок: планування та реалізація експериментальної моделі, виконано імуногістохімічний аналіз препаратів, сформульовано висновки).*

5. **Sikora K**, Lyndin M, Sikora V, Hyriavenko N, Piddubnyi A, Lyndina Y, Awuah WA, Abdul-Rahman T, Korobchanska A, Alexiou A, Romaniuk A. Heavy

metals effect on the rat uterus and effectiveness of vitamin E treatment. JJBS. 2023;16(3):455-65. DOI: 10.54319/jjbs/160309. *(Особистий внесок: планування та реалізація експериментальної моделі, виконано гістологічне та морфометричне дослідження зразків, здійснено статистичне опрацювання даних та узагальнення матеріалу, сформульовано висновки).*

Наукові праці, які додатково відображають наукові результати дисертації:

6. Кузенко ЄВ, Романюк АМ, Скиданенко МС, Линдін МС, Сікора ВВ, Піддубний АМ, Москаленко РА, **Сікора КО**, Дяченко ОО, Линдіна ЮМ, Покотило ВМ, Гирявенко НІ, Карпенко ЛІ, Коломієць ОО, Кузенко ОВ, винахідники; Сумський державний університет МОН України, патентовласник. Пристрій для гістологічного та гістохімічного забарвлення препаратів. Патент України на корисну модель № 144872. 2020 Жов 26, Бюл. № 20. 6 с. *(Особистий внесок: аналіз літературних даних та пошук аналогів, розробка протоколів забарвлення та написання тексту).*

Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:

7. **Сікора КО**, Линдін МС, Гирявенко НІ, Сікора ВВ, Романюк АМ. Гістологічні зміни в стінці матки шурів під дією солей важких металів. Матеріали третьої всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю «Теорія та практика сучасної морфології»; 9-11 жовтня 2019 р.; м. Дніпро, Україна. Дніпро: Дніпропетровська медична академія МОЗ України; 2019. с. 123–4. *(Особистий внесок: реалізація експерименту та відбір матеріалу, аналіз та узагальнення результатів досліджень).*

8. **Sikora K**, Lyndin M, Kravtsova O, Sikora V, Romaniuk A, Singer ВВ. CEACAM1 expression in the normal uterus of rats. 32nd European Congress of Pathology; 05–09 December 2020 (Brussels, Belgium); Berlin, Germany: Springer. Virchows Archiv: 2020;447(Suppl 1):S72. *(Особистий внесок: реалізація експерименту та відбір матеріалу, виконано імуногістохімічний аналіз препаратів).*

9. **Sikora K.** The heavy metals impact on the heat shock proteins production in the rats endometrium. 7th Lublin International Medical Congress for Students and Young Doctors; 26–28 November 2020; Lublin, Poland. Lublin: Student's Scientific Society of the Medical University of Lublin; 2020. p. 215. *(Особистий внесок: реалізація експерименту та відбір матеріалу, виконано імуногістохімічний аналіз препаратів та узагальнення матеріалу).*

10. Wireko AA, **Sikora K**, Lyndin M, Hyriavenko N, Romaniuk A. Heavy metals effect on the chemical composition variations in rat uterus tissue. International Medical Students' Congress of Bucharest; 09-13 December 2020; Bucharest, Romania; 2020. p. 44. *(Особистий внесок: реалізація експерименту та відбір матеріалу, виконано спектрофотометричний аналіз зразків та статистичне опрацювання даних, оформлення тез до друку).*

11. **Sikora K**, Lyndin M, Moskalenko R, Kuzenko Y, Romaniuk A. Heavy metals exposure decrease the progesterone expression in the rat myometrium. 33rd European Congress of Pathology; 29-31 August 2021 (Gothenburg, Sweden – virtual); Berlin, Germany: Springer. Virchows Archiv: 2021;479(Suppl 1):S125. *(Особистий внесок: реалізація експерименту та відбір матеріалу, виконано імуногістохімічний аналіз препаратів та узагальнення матеріалу, оформлення тез до друку).*

12. **Сікора КО**, Линдіна ЮМ, Авуах ВЕ, Романюк АМ. Оцінка змін морфологічної будови та елементного складу матки щурів після відміни дії важких металів. Матеріали Всеукраїнської міждисциплінарної науково-практичної конференції з міжнародною участю «УМСА – століття інноваційних напрямків та наукових досягнень (до 100-річчя від заснування УМСА)» присвячена 100-річчю заснування Української медичної стоматологічної академії; 8 жовтня 2021; Полтава, Україна. Полтава: Полтавський державний медичний університет; 2021. с. 156–7. *(Особистий внесок: реалізація експерименту та відбір матеріалу, виконано морфологічний та спектрофотометричний аналіз зразків, узагальнено результати, оформлення тез до друку).*

13. **Sikora K**, Lyndin M, Moskalenko R, Lyndina Y, Hyriavenko N, Awuah WA, Sikora V, Romaniuk A. Vitamin E reduces the suppression of estrogen receptors in the rat endometrium caused by exposure to heavy metals. 34th European Congress of Pathology; 03–07 September 2022 (Basel, Switzerland); Berlin, Germany: Springer. Virchows Archiv: 2022;481(Suppl 1):S268. *(Особистий внесок: реалізація експерименту та відбір матеріалу, виконано імуногістохімічний аналіз препаратів та узагальнення матеріалу, оформлення тез до друку).*

14. **Сікора КО**, Линдін МС, Сікора ВВ, Романюк АМ. Тривалий вплив важких металів супроводжується пригніченням експресії супероксиддисмутази-1 в матці щурів. VII Міжнародна науково-практична конференція з міжнародною участю «Проблеми, досягнення та перспективи розвитку медико-біологічних і спортивних наук»; 29 жовтня 2022 р.; м. Миколаїв, Україна. Миколаїв : Поліграфічне підприємство СПД Румянцева Г.В.; 2022. с. 7–8. *(Особистий внесок: реалізація експерименту та відбір матеріалу, виконано імуногістохімічний аналіз препаратів та узагальнення матеріалу, оформлення тез до друку).*

15. **Сікора КО**. Морфологічні зміни в міометрії щурів за умов впливу солей важких металів. XIII Всеукраїнська науково-практична конференція «Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм»; 26-28 жовтня 2022 р.; м. Тернопіль, Україна. Тернопіль: Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України; 2022. с. 64. *(Особистий внесок: реалізація експерименту та відбір матеріалу, виконано морфологічний аналіз препаратів, узагальнено результати, оформлення тез до друку).*

16. **Сікора КО**. Особливості морфометричних змін матки щура у відновний період після відміни тривалого впливу важких металів та за умов використання вітаміну Е. V науково-практична конференція студентів та молодих вчених з міжнародною участю «Від експериментальної та клінічної патофізіології до досягнень сучасної медицини і фармації»; 18 травня 2023 р.;

м. Харків, Україна. Х. : НФаУ; 2023. с. 282–3. *(Особистий внесок: реалізація експерименту та відбір матеріалу, виконано морфометричний та статистичний аналіз, узагальнення результатів, оформлення тез до друку).*

17. **Sikora K**, Lyndina Y, Hyriavenko N, Wireko A, Abdul-Rahman T, Tsepochko D, Romaniuk O, Lyndin M, Romaniuk A. Vitamin E inhibits heavy metals accumulation in the uterus during short- and long-time exposure. 35th European Congress of Pathology; 09–13 September 2023 (Dublin, Ireland); Berlin, Germany: Springer. Virchows Archiv: 2023;483(Suppl 1):S93. *(Особистий внесок: реалізація експерименту та відбір матеріалу, виконано спектрофотометричний аналіз зразків та статистичне опрацювання даних, оформлення тез до друку).*

ЗМІСТ

	Стр.
ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ.....	18
ВСТУП.....	19
РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ.....	28
1.1. Загальні відомості про біологічну роль важких металів у навколишньому середовищі.....	28
1.2. Характеристика впливу важких металів на організм.....	36
1.3. Особливості анатомо-фізіологічної будови матки.....	47
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	55
2.1. Дизайн експеримента.....	55
2.2. Експериментальні тварини.....	57
2.3. Цитологічне дослідження вагінального мазка.....	59
2.4. Морфологічне дослідження матки щура.....	61
2.5. Імуногістохімічне та флюоресцентне дослідження.....	62
2.6. Морфометричний та мікроскопічний аналіз.....	63
2.7. Атомно-абсорбційний спектрофотометричний аналіз.....	65
2.8. Статистичний аналіз.....	66
РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ВЛАСНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ.....	67
3.1. Патоморфологічні зміни матки щурів за умов впливу важких металів.....	67
3.2. Морфометричні зміни товщини матки щурів на тлі впливу важких металів.....	91
3.3. Імуногістохімічні особливості матки щурів за умов впливу важких металів.....	106
3.4. Особливості вмісту хімічних елементів у тканині матки щурів за умов впливу важких металів.....	125

РОЗДІЛ 4. АНАЛІЗ ТА ОБГОВОРЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ

ДОСЛІДЖЕННЯ.....	138
ВИСНОВКИ.....	172
ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ.....	175
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	176
ДОДАТКИ.....	206

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

- ВМ – важкі метали;
- ВМ(30) – щури отримували воду забруднену сумішшю ВМ упродовж 30 днів;
- ВМ+Е(30) – щури отримували комбінацію ВМ та вітамін Е упродовж 30 днів;
- ВМ(90) – щури вживали питну воду забруднену ВМ упродовж 90 днів;
- ВМ+Е(90) – щури отримували комбінацію ВМ та вітамін Е упродовж 90 днів;
- ВМ(90)+90відн – щури, які отримували суміш ВМ упродовж 90 днів з переходом на звичайну воду на наступні 90 днів;
- ВМ(90)+90відн(Е) – щури, які впродовж 90 днів отримували вітамін Е після відміни 90-то денного вживання ВМ;
- ВМ+Е(90)+90відн(Е) – щури, які одночасно отримували ВМ та вітамін Е упродовж 90 днів з наступним вилученням з раціону суміші ВМ та пролонгацією лікування коректором наступні 90 днів;
- Кнтр – інтактні щури;
- МКА-РЕА1 – молекули клітинної адгезії раково-ембріонального антигену 1;
- ЕР – естрогенові рецептори;
- ПР – прогестеронові рецептори;
- СВМ – солі важких металів;
- СОД1 – супероксиддисмутаза 1;
- Нsp90α – білки теплового шоку з масою 86 кДа.

ВСТУП

Актуальність теми дослідження.

Проблемі глобалізації порушення екологічного стану довкілля шляхом антропогенного забруднення важкими металами (ВМ) приділяється багато уваги у всьому світі, починаючи від виробництва та використання поллютантів, і закінчуючи пошуками ефективних важелів контролю за станом екосистем планети та методів біоремедіації [1,2]. Загальновідомо, що ВМ входять до переліку найпоширеніших хімічних елементів у навколишньому середовищі та можуть мати як позитивні, так і негативні наслідки для живої і неживої природи [3]. Незважаючи на численні зусилля Всесвітньої організації охорони здоров'я та інших агентств із захисту довкілля, промисловий розвиток призводить до неконтрольованого забруднення біосфери та загрози порушення природнього балансу флори та фауни, що обґрунтовує важливість і актуальність вивчення даної проблеми й пошуку шляхів її вирішення для науки та суспільства [2-5].

Особливу увагу в медицині приділяють дослідженню збільшення ризиків захворюваності та розвитку патологій, спровокованих пагубною дією ксенобіотиків. Проблема полягає в тому, що не всі ВМ є токсичними, а переважна їх більшість у порогових концентраціях вважається есенціальними мікроелементами, необхідними на всіх етапах розвитку та функціонування організмів [3,4,6-8]. Однак, порушення їх вмісту та складу надходження з води, повітря, ґрунту та продуктів харчування до організму може супроводжуватися непередбачуваними і несприятливими порушеннями функціонування як окремих систем (травної, дихальної, кровотворної, сечовидільної, нервової та ендокринної), так і організму в цілому [7-10]. Більш того, все частіше наслідки адитивної контамінації ВМ у забруднених регіонах пов'язують зі зростанням ризиків погіршення репродуктивного здоров'я, де одне з провідних місць відводиться патології матки [11,12]. Так, порушення екологічно-обумовленого генезу у матці можуть варіювати від

дистрофічних змін до пухлинної трансформації шляхом їх естрогеноподібного ефекту, порушення ферментативних реакцій і клітинного обміну, пошкодження генетичного матеріалу, інтоксикації, епігенетичного успадкування, розвитку оксидативного стресу, запалення та інше [11-14].

Окремо варто відмітити, що патогенетичні ланки механізмів розвитку патології матки на тлі одночасної дії декількох ВМ достовірно не розкриті, так як особливості діапазону концентрацій екзогенних елементів, комбінацій, джерела забруднення, методу поширення, здатності до біоаккумуляції, часу та шляху експозиції на організм відрізняються у різних куточках світу. Це супроводжується значною варіацією вмісту ВМ у тканинах матки та характеру патологічних змін у них, що потребує персоніфікованого підходу до розуміння ступеню пошкодження, прогнозування перебігу, ефективності профілактики й лікування [3,4,8,9,11,13-16].

Варто зазначити, що все частіше з'являються повідомлення про застосування різноманітних природніх та штучних сполук з детоксикаційними властивостями для попередження та зниження акумулятивного впливу ВМ. Більшість з них мають прямі антагоністичні відносини з ВМ [1,6,17,18]. Однак, численні механізми впливу кожного окремого металу-мікроелементу (особливого двох і більше) ускладнюють пошук універсального засобу, який міг би нівелювати накопичення ВМ у тканинах організму та блокувати їх дію. На сьогодні, одним з перспективних фармакологічних засобів є вітамін Е, який володіє потужними антиоксидантними та протекторними властивостями. Крім того, відомо про ефективність вітаміну Е для жіночого гінекологічного здоров'я та лікування репродуктивних захворювань різного генезу [17,19,20]. На жаль, знайти чіткі дані щодо розуміння шляхів сприятливого впливу вітаміну Е на зміни в матці, індуковані впливом солей ВМ (СВМ), не вдалося.

Саме складність розуміння патогенезу порушень у матці на тлі впливу ВМ та важливість пошуку засобів для зниження їх токсичності і рівнів накопичення спонукали нас до детального вивчення цього питання.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.

Дисертаційне дослідження виконане у відповідності з планом наукових досліджень кафедри патологічної анатомії Навчально-наукового медичного інституту Сумського державного університету та являється складовою частиною науково-дослідних робіт № 0119U100887 «Сучасні погляди на морфогенез загальнопатологічних процесів», № 0121U100472 «Розробка методу інтраопераційної діагностики злоякісних пухлин за допомогою флюорофор-кон'югованих антитіл до молекул раково-ембріонального антигену» та № 0123U100111 «Розробка методу діагностики та прогнозування перебігу пухлин з використанням молекул клітинної адгезії раково-ембріонального антигену та циклооксигеназ». Тема дисертаційної роботи була затверджена на засіданні Вченої ради Сумського державного університету Міністерства освіти і науки України (протокол №4 від 14.11.2019).

Мета дослідження:

Вивчення морфофункціональних особливостей матки статевозрілих щурів за умов експериментального впливу на організм суміші СВМ та оцінка ефективності застосування вітаміну Е для корекції їх дії.

Завдання дослідження:

1. Встановити закономірності будови матки та її мікроелементного складу у інтактних статевозрілих самиць щурів для подальшого порівняння даних з результатами експерименту.
2. Дослідити та порівняти морфологічні, імуногістохімічні та імунофлюоресцентні особливості стану матки щурів на тлі впливу на організм експериментальної суміші СВМ упродовж 30-ти та 90-то діб.
3. Вивчити та проаналізувати морфометричні характеристики структурної перебудови матки за умов 30-ти та 90-то денної експозиції СВМ.
4. Провести аналіз мікроелементного складу тканини матки щурів за умов 30-ти і 90-то денного вживання надмірної кількості СВМ.

5. Визначити та порівняти особливості відновних змін у матці щурів на 90-ту добу після відміни дії експериментальної суміші СВМ.

6. Оцінити ефективність застосування вітаміну Е для протидії впливу ВМ на матку щурів.

Предмет дослідження: морфофункціональні зміни матки щурів, зумовлені впливом ВМ на організм та ефективність застосування вітаміну Е.

Об'єкт дослідження: стан матки щурів за умов дії ВМ.

Методи дослідження: мікроскопічний аналіз стінки матки щурів з використанням гістологічних, морфометричних, імуногістохімічних та імуофлюоресцентних методик; цитологічне вивчення вагінальних мазків, атомно-абсорбційне дослідження тканин та статистичний аналіз.

Наукова новизна отриманих результатів.

У дисертаційній роботі проведено комплексне вивчення структурних особливостей будови матки, її функціональних властивостей, характеру експресії окремих білків і біоелементного складу за допомогою сучасних діагностичних методів. Узагальнені фізіологічні вікові параметри на 30-ту, 90-ту та 180-ту доби (4-ий, 6-ий та 9-ий місяці життя, відповідно) дослідження можуть слугувати контрольним діагностичним індикатором для вивчення впливу експериментальних факторів на репродуктивний орган.

Вперше досліджено вплив експериментальної моделі вживання сумішші солей цинку, міді, заліза, марганцю, свинцю та хрому упродовж 30-ти та 90-то діб на матку самиць щурів. Обґрунтовано та доповнено патогенетичні ланки і предиктори адаптаційно-компенсаторних механізмів матки на мікроскопічному рівні у відповідь на вплив екзогенних поллютантів. Науково-доведені результати поглиблюють розуміння варіації морфометричної та морфологічної трансформації структурних елементів органа в залежності від термінів експерименту – збільшення товщини матки на 30-ту добу та зменшення на 90-ту добу. Вивчено та обґрунтовано термін-залежні гістологічні трансформації у матці щурів різного ступеню виразності

та інтенсивності, які представлені гетерогенністю дистрофічних, гіперпластичних, гіпертрофічних, дегенеративно-атрофічних, дезорганізаційних, запальних та циркуляторних порушень. Більш того, вперше описано та порівняно інтенсивність накопичення цинку, міді, заліза, марганцю, свинцю та хрому на тлі експозиції сумішшю СВМ у різні терміни, а також проаналізовано характер накопичення кожного окремого ВМ у тканині матки. Встановлено зниження інтенсивності накопичення ВМ у тканині органа з пролонгацією дослідження. Вивчено особливості порушення експресії естрогенових (ЕР) та прогестеронових (ПР) рецепторів, молекул клітинної адгезії раково-ембріонального антигену 1 (МКА-РЕА1), білків теплового шоку 90α (Hsp90α) та супероксиддисмутази 1 (СОД1) як потенційних маркерів діагностики мікроелементозу та їх наслідків, а також прогнозування його перебігу. Статистично доведено кореляційну залежність морфологічних, морфометричних, імуногістохімічних та імунофлюоресцентних індикаторів від показників акумуляції хімічних елементів та терміну їх експозиції на організм. Отримані дані надають можливість прогнозувати ступінь виразності змін у матці та їх перебіг внаслідок негативного впливу ВМ.

Вперше було проведено порівняльну характеристику ефективності протективного впливу вітаміну Е на морфологічні, морфометричні, імуногістохімічні, імунофлюоресцентні та спектрофотометричні показники матки щурів під час модельованого впливу ВМ. Деталізовано дані про особливості зменшення та уповільнення інтенсивності патоморфометричних процесів, а також статистично доведено та описано роль вітаміну Е у забезпеченні резистентності матки для протидії впливу ВМ. Доведено, що застосування коректору (у дозі 9,1 мг/кг від маси тіла щурів з урахуванням видових особливостей) на тлі дії полютантів захищає тканини матки від акумуляції хімічних елементів та патоморфологічних порушень.

Встановлено та сформовано концепцію розуміння відновних механізмів у матці щурів на 90-ту добу після відміни дії ВМ на організм, а

також за умов застосування вітаміну Е у період реадаптації. Так, у відновний період було виявлено тенденцію до поступового зменшення виразності патоморфологічних змін у матці, зниження експресії ЕР і МКА-РЕА1 з одночасним збільшенням ПР, Hsp90 α та СОД1, поступового зниження рівнів ВМ у тканині органа й стабілізації товщини його стінки.

Практичне значення отриманих результатів.

Отримані результати дисертаційного дослідження значно розширюють уявлення щодо особливостей наслідків 30-ти та 90-то денного впливу ВМ на матку щурів. Вперше детально описано залежність патоморфологічних трансформацій в стінці органа від показників накопичення хімічних елементів та тривалості дії експериментальної суміші СВМ (цинку, міді, заліза, марганцю, свинцю та хрому) на організм щурів, а також після їх відміни. Отримані результати детально описують перебіг морфометричних перебудов структурних компонентів матки та розкривають їх взаємозв'язок з інтенсивністю накопичення ВМ у різні терміни експерименту. Рекомендована панель діагностичних біомаркерів (ЕР, ПР, Hsp90 α , МКА-РЕА1 та СОД1), яка сформована на аналізі імунoproфілю тканини, поглиблює розуміння перебігу порушень у матці щурів за умов впливу ВМ та дає можливість прогнозувати інтенсивність та ступінь відновлення після їх виключення у реадаптаційний період. Результати дисертаційного дослідження значно розширюють уявлення щодо особливостей перебігу та прогнозування наслідків різного терміну дії ВМ на матку щурів, що має як теоретичне, так і практичне значення для оцінки глибини змін.

На основі отриманих результатів, рекомендується розглядати застосування вітаміну Е у дозі 9,1 мг/кг як ефективного засобу для зменшення акумулятивного потенціалу ВМ і зниження пов'язаних з ними патологічних змін у стінці матки, а також для розроблення експериментальних детоксикаційних протоколів з метою нівелювання їх впливу (або інших токсикантів з схожим механізмом дії) на організм.

Матеріали дисертаційної роботи поглиблюють знання щодо особливостей діагностики порушення гомеостазу матки щурів зумовлених впливом ВМ, перебігу компенсаторно-приспосувальних процесів та прогнозування можливих наслідків у відновний період. Ці результати можуть бути використані при підготовці фахівців з медицини, біології, ветеринарії та екології за тематикою екологічно-обумовлених патологій органів репродуктивної системи.

Результати впроваджені у навчальних та науковий процес кафедр теоретичного та практичного спрямування, а саме: кафедри патологічної анатомії Сумського державного університету, кафедри морфології Сумського державного університету, кафедри гістології, цитології та ембріології Івано-Франківського національного медичного інституту, кафедри патологічної анатомії Харківського національного медичного університету, кафедри анатомії людини Харківського національного медичного університету та кафедри патологічної анатомії та судової медицини Полтавського державного медичного університету (Додаток Б).

Особистий внесок здобувача.

Під керівництвом наукового керівника (доктора медичних наук, професора Романюка А.М.) було обрано напрямок дисертаційної роботи та затверджено план проведення експериментів на базі кафедри патологічної анатомії Навчально-наукового медичного інституту Сумського державного університету. Надалі, здобувачка самостійно здійснила аналіз літературних джерел та їх інтерпретацію, визначила мету та основні завдання. Дисертантка сформувала дизайн експериментального дослідження на тваринах та брала безпосередню участь у кожному етапі його виконання. Здобувачка опанувала і виконала морфометричні, морфологічні, імуногістохімічні та імунофлуоресцентні дослідження зразків з подальшим аналізом результатів за консультативної допомоги наукового керівника. Атомно-абсорбційне спектрофотометричне дослідження виконане за участі дисертантки на базі

кафедри морфології Навчально-наукового медичного інституту Сумського державного університету. Авторкою проведено аналіз результатів, їх статистичне опрацювання та узагальнення. Самостійно написано всі розділи дисертації, оформлено таблиці, рисунки та схеми. Основні положення та висновки дисертації обговорено та узгоджено з науковим керівником.

Апробація матеріалів дисертації.

Основні здобутки дисертаційної роботи були представлені та обговорені на Всеукраїнських і міжнародних конференціях і конгресах (Додаток А), а саме: 3-ій Всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю «Теорія та практика сучасної морфології» (9-11.10.2019 р.; м. Дніпро, Україна), 32-ому Європейському конгресі патології (05–09.12.2020 р.; м. Глазго, Шотландія), 7-ому Люблінському міжнародному медичному конгресі (26–28.11.2020 р.; м. Люблін, Польща), Міжнародному конгресі студентів-медиків у Бухаресті (09–13.12.2020 р.; м. Бухарест, Румунія), 33-ому Європейському конгресі патології (28.08–31.09.2021 р.; м. Гетеборг, Швеція – віртуально), Всеукраїнській міждисциплінарній науково-практичній конференції з міжнародною участю «УМСА – століття інноваційних напрямків та наукових досягнень (до 100-річчя від заснування УМСА)» присвячена 100-річчю заснування Української медичної стоматологічної академії (08.10.2021 р.; м. Полтава, Україна), 34-ому Європейському конгресі патології (03–07.09.2022 р.; м. Базель, Швейцарія), 7-ій Міжнародній науково-практичній конференції з міжнародною участю «Проблеми, досягнення та перспективи розвитку медико-біологічних і спортивних наук» (29.10.2022 р.; м. Миколаїв, Україна), 13-ій Всеукраїнській науково-практичній конференції «Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм» (26–28.10.2022 р.; м. Тернопіль, Україна), V науково-практичній конференції студентів та молодих вчених з міжнародною участю «Від експериментальної та клінічної патофізіології до досягнень сучасної медицини і фармації» (18.05.2023 р.; м. Харків, Україна),

35-ому Європейському конгресі патології (09–13.09.2023 р.; м. Дублін, Ірландія). Результати виконання дисертаційного дослідження було представлено на засіданні кафедри патологічної анатомії (протокол №9 від 02.05.2023 р.) та апробаційної ради з попередньої експертизи дисертаційної роботи (протокол №35 від 20.09.2023 р.) за спеціальністю 222 – «Медицина» Навчально-наукового медичного інституту Сумського державного університету.

Кількість публікацій.

За матеріалами дисертації опубліковано 17 наукових праць: 5 статей, зокрема 2 статті у періодичних наукових фахових виданнях України (1 стаття у журналі категорії «Б» та 1 стаття у журналі категорії «А», що індексується наукометричною базою даних Scopus), 3 статті у закордонних журналах, які індексуються у наукометричній базі даних Scopus; 11 тез доповідей у матеріалах Всеукраїнських та міжнародних науково-практичних конференцій (4 індексуються наукометричною базою даних Web of Science Core Collection); отримано 1 патент України на корисну модель. 4 роботи опубліковані одноосібно.

Структура та обсяг дисертації.

Дисертаційна робота викладена на 174 сторінках основного друкованого тексту (при загальному обсязі – 223 сторінки) і складається з анотацій українською та англійською мовами, переліку публікацій (17 найменувань), змісту, переліку умовних скорочень, вступу, розділу «Огляд літератури» (3 підрозділи), розділу «Матеріали та методи досліджень» (8 підрозділів), розділу «Результати власних досліджень» (4 підрозділи), розділу «Аналіз та обговорення результатів дослідження», висновків, практичних рекомендацій, списку використаних джерел та додатків. Дисертація містить 63 рисунка, 16 таблиць та 3 додатки, а перелік літературних джерел містить 240 найменувань.

РОЗДІЛ 1

ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1. Загальні відомості про біологічну роль важких металів у навколишньому середовищі.

Проживання в сучасних умовах характеризується порушенням запрограмованих протягом довготривалої еволюції механізмів існування організмів, що, в свою чергу, проявляється деформацією генетичної інформації під дією численних факторів довкілля та складних захворювань [21]. У зв'язку із швидко прогресуючою індустріалізацією та урбанізацією відбулось неконтрольоване забруднення навколишнього середовища поллютантами, такими як неорганічні, органічні та газоподібні забруднювачі, радіоактивні ізотопи, металоорганічні сполуки та наночастинки [22]. При цьому, саме ВМ (металоорганічні сполуки) очолюють вершину списку екологічних токсикантів, що загрожують екологічною катастрофою [22-24]. Так, тотальне та прогресивне забруднення навколишнього середовища ВМ несе велику загрозу для живих організмів та формує одну з головних проблем сучасного суспільства [23,24], а темпи їх генерації і поширення у довкіллі значно зросли порівняно з минулим століттям [25].

Синхронне всеохоплююче наростання комбінацій та концентрацій металів природного та/або антропогенного походження (титан, ванадій, хром, марганець, залізо, кобальт, нікель, мідь, цинк, миш'як, молібден, срібло, кадмій, олово, платина, золото, ртуть, свинець та інші) зумовлює негативні наслідки як для екосистеми, так і для всіх живих організмів, що має визнане велике соціально-економічне значення [22,23]. При цьому, основним джерелом забруднення біосфери, атмосфери, літосфери та гідросфери є саме антропогенний вплив, що включає хімічну промисловість та промислові викиди, енергетичні та побутові відходи, звалища, автомобільне спалювання палива, видобуток корисних копалин, виплавка металів та сільськогосподарська діяльність (обробка пестицидами та фосфорними

добривами) [22-24,26-28]. З іншого боку, не варто забувати і про геогенні джерела контамінації ВМ, що включають геологічне вивітрювання гірських порід збагачених металами, корозію, вулканічну активність, ерозію ґрунту, пожежі, випаровування та седиментацію [22-24]. Більш того, можливі перехресні зміни походження та поширення ВМ шляхом осадження аерозольних частинок, аварії з розливом нафти, випадіння опадів із забрудненої атмосфери, стоки, використання біопестицидів та інші. При цьому, метали повільно розкладаються і майже не біодеградують [22,24].

Беручи до уваги значну кількість хімічних елементів та особливості ролі кожного з них в екологічних, біологічних та токсикологічних аспектах живих організмів їх поділяють на есенціальні та неесенціальні [22,23]. У свою чергу, біологічно значущі (есенціальні) елементи бувають: основні необхідні організму (водень, вуглець, азот та кисень) елементи, макроелементи (натрій, магній, фосфор, сірка, хлор, калій і кальцій) та мікроелементи (металеві хімічні елементи та металоїди (напівметали) в малій кількості ($<10^{-6}$)) [3,27,29]. При цьому, іони металів, що відносяться до категорії мікроелементів є необхідними у мінімальних кількостях хімічними елементами (марганець, мідь, залізо, цинк, кобальт, нікель, магній, кремній, селен, молібден та інші), які відіграють важливу і корисну роль у метаболізмі живих організмів. За цих умов, перелік есенціальних ВМ є різним для рослини, тварин та людей: певний мікроелемент важливий для одного виду, однак не обов'язковий для іншого [3,23,29]. З іншого боку, неесенціальними металами (біологічно інертними елементами) вважаються As, Al, Sb, Ba, Ni, Cd, Be, Bi, Pb, Hg, In, Li, V, Ag, Te, Pt, Sn та U, так як вони не беруть участі у біологічних процесах та є високотоксичними навіть при низьких рівнях експозиції [29,30]. Однак, окрім своєї токсичності, вони можуть впливати на рівень інших есенціальних елементів в організмі за рахунок взаємодії між ними [3,30,31]. Так, цинк та селен можуть впливати на токсичність кадмію, свинцю та миш'яку, а залізо блокує накопичення кадмію, та інше [31].

У свою чергу, корелятивне зростання цікавості до розуміння проблематики ВМ, зобов'язує зупинитися на визначенні даного терміну та номенклатурі елементів [32]. Так, за даними Міжнародного союзу теоретичної і прикладної хімії та згідно з думкою багатьох вчених, термін «важкий метал» вважається дуже неточним через відсутність стандартного загальноприйнятого визначення [32,33]. У залежності від контексту, даний термін включає такі синонімічні значення як токсичні або небезпечні метали, мікроелементи, металоїди, есенціальні (незамінні) метали, перехідні метали, неесенціальні метали, мікронутрієнти. При цьому, фізіологічний або токсикологічний профіль металу-мікроелементу ніяк не впливає на його важкість [33]. Відтак, під визначенням «важкі метали» можна об'єднати хімічні елементи з високим атомним числом (вище 20) та/або високою щільністю (вище 5 г/см³). На сьогодні такими характеристиками наділені близько 60 металів, однак все ще залишаються металоїди з невизначеним статусом [3,28,33-35]. Окремі ж автори пропонують додатково впровадити термін «Потенційно токсичні елементи» та чітко розподілити перелік хімічних елементів для кожної класифікації [32]. Так як неврахування хімічної специфікації елементів може призвести до неадекватної оцінки ризику та некоректної оцінки стану оточуючого середовища.

На сьогодні, майже всі ВМ ідентифікуюся у всіх шарах екосистеми у різних куточках світу, при цьому, деякі з них розглядаються як частина даного середовища (природні елементи земної кори), а частина як токсиканти [3,24,27,28,32,33]. Діяльність людини негативно впливає на навколишнє середовище, забруднюючи воду, яку ми п'ємо, повітря, яким дихаємо, і ґрунт, на якому ростуть рослини. У той же час, на їх переміщення в довкіллі впливає температура середовища, рух поверхневих вод, циркуляція повітряних мас і швидкість вітру, а також не прямі фактори (коефіцієнт розподілу, полярність, тиск та стабільність молекул) [3]. Важливо зауважити, що встановлені допустимі рівні різних іонів ВМ коливаються від 10^{-12} до 10^{-6}

відповідно до рекомендацій Всесвітньої організації охорони здоров'я та Європейського медичного агентства [5].

Одним з найефективніших сорбентів ВМ є ґрунт. Однак, природній та/або професійний вплив екологічних забруднювачів знаходить своє відображення зниженні якості та продуктивності ґрунту [35,36]. Доведено, що в регіонах з активним видобутком копалин рівні ВМ (As, Cd, Cr, Cu, Hg, Ni, Pb та Zn) у десятки разів перевищують фонові значення, що несе за собою біологічну та харчову небезпеку [3,24,28,36]. Більш того, в ґрунтах метали здатні існувати самостійно або у контакті з внутрішньо ґрунтовими компонентами (обмінні та необмінні іони, нерозчинні (карбонати та фосфати) і розчинні неорганічні сполуки металів, вільні іони металів у ґрунтовому розчині, метали з'єднані з силікатними мінералами) [37]. У той час, як на міграцію металів у ґрунті впливає відносна площа його поверхні ґрунту та великі межі розподілу, мікробна біомаса, мінералізація, дихання та ферментативна активність, щільність і тип заряду колоїдів та інше [36,37]. Загалом, поведінка ВМ може змінюватися у залежності від специфічних властивостей ґрунтів. Так, у ґрунтах з високим водневим показником значно знижується дія кадмію та цинку на корені рослин. З одного боку, доведено, що наявність органічних речовин, щільність, тип заряду ґрунтових колоїдів, ступінь комплексотворення з лігандами, температура, аерація ґрунту, активність мікробів, мінеральний склад та підвищений вміст вологи зменшують біодоступність металів. З іншого боку, при значному перевищенні фонових концентрацій ВМ можуть протилежно змінювати біологічні властивості ґрунту [3,24,27,36,37]. Під час аналізу ступеню забруднення землі найбільш широко використовуються індекс геоаккумуляції, індекс потенційного екологічного ризику, одиничний індекс забруднення та композиційний індекс забруднення. При цьому, оцінка результатів не зосереджується на одному показнику, а базується на основі всіх доступних методів дослідження для комплексного і остаточного висновку [26-29].

Токсичність металоїдів для ґрунтів проявляється впливом на його ферментативну активність, контамінацію мікроорганізмів, дією на рослини, тварин та людей. Так, перевищення порогу толерантності Pb і Cd може зашкодити активності ґрунтових ферментів і зменшити мікробне різноманіття, а також призвести до повної загибелі рослин. У той же час, наявність одного ВМ може вплинути на наявність та поведінку іншого в ґрунті, а отже, і в рослині. Прикладом таких антагоністичних та/або синергетичних властивостей є інгібуючий ефект Mn на Cd, Cu здатна підвищувати токсичність Zn, а Ni і Cd можуть конкурувати за однакові мембранні носії в рослинах з Cu і Zn [27]. Так, спільна дія двох і більше потенційно токсичних ВМ у мінімальних концентраціях була настільки ж шкідливою, як і вплив найбільш токсичного важкого металу. Дослідник пояснив цей результат антагоністичним зв'язком, який існує між ВМ. З іншого ж боку, позитивним є те, що вчені досягли значних успіхів у біоремедіації ґрунтів за допомогою специфічних мікроорганізмів та бактерій, які здатні трансформувати ступінь окислення металів і зменшувати їх токсичність і біологічну доступність. Так, уже доведена кореляція між застосуванням різноманітних методів рекультивації ґрунту, хімічної іммобілізації, електрокінетичної екстракції та біоремедіації для боротьби з такими металами як Se, Cr, Pb, Cd, Zn, Hg та інші [24,27,30,37].

Хімічні елементи відіграють важливу біологічну роль у рослинному світі. При цьому, як есенціальні (мідь, нікель, залізо і цинк), так і неесенціальні (Pb, Cd, Hg та As не відіграють жодної корисної ролі у зростанні рослин та у низьких концентраціях проявляють виключно несприятливі ефекти) метали однаково легко поглинаються корінням за допомогою двовалентного транспорту та через неспецифічні іонні канали з подальшим накопиченням у плодах та/або насінні. Більш того, ферментативні процеси рослин не здатні розщеплювати ВМ, а при перевищенні їх оптимальних рівнів відбувається пригнічення фізіологічного метаболізму, заміщення необхідних поживних речовин у катіонному обміні,

інгібування цитоплазматичних ферментів та пошкодження клітинних структур як прямо, так і опосередковано [24,27,37,40-42]. Окрім цього, через високу концентрацію металу знижується розкладання органічних речовин, що призведе до зменшення кількості поживних речовин у ґрунті та гибелі рослинності [3,24,37,43].

Разом з цим, листя та кора дерев можуть слугувати індикаторами біомоніторингу забруднення ВМ. При цьому, вчені прийшли до висновку, що деякі рослини можуть, навпаки, бути корисними для очищення водних та ґрунтових середовищ від надлишку ксенобіотиків. Так, рослини з щільною кореневою системою, високою витривалістю у польових умовах, швидким зростанням і здатністю до саморозмноження використовуються для фітостабілізації, фітоволатилізації та фітоекстракції у різних куточках світу [37,42,43]. Ці стратегії передбачають вибір потенційних рослин-кандидатів з природною або генно модифікованою толерантністю до забруднювачів для відновлення навколишнього середовища [42,43].

Іншим середовищем, що зазнало негативного впливу поллютантів є гідросфера. Так, все частіше з'являються повідомлення про виявлення критичних концентрацій ВМ у океанах, морях, озерах, ґрунтових та поверхневих водах у всьому світі. ВМ мають відносно високу щільність порівняно з водою, тому не розкладаються у ній, хоча добре розчиняються, що у кінцевому підсумку призводить до їх накопичення до надмірних рівнів. Це стосується як дисбалансу рівнів есенціальних елементів, так і надзвичайно токсичних (кадмій, миш'як, свинець, ртуть, нікель та інші) [3,22-25,44,45]. Так, згідно з Агенцією з охорони навколишнього середовища США та Всесвітньої організації охорони здоров'я, безпечний вміст ртуті у стічних водах становить у середньому 0,0019 мд, для кадмію – 0,003 мд, для свинцю – 0,01 мд, для хрому – 0,05 мд, для нікелю – 0,02 мд [45]. Однак, спектрофотометричний аналіз стічних вод неподалік від численних підприємств встановив достовірне перевищення цих доз у десятки разів у різних куточках світу. При цьому, особливо увага приділяється саме

істинним токсичним металам, хоча біогенні метали у високих концентраціях також вважаються небезпечними, а їх дія взагалі непередбачувана [3,29,31,44-47]. Небезпека перенасичення металоїдами стічних вод полягає не тільки в забрудненні рослин та живих організмів водної екосистеми, а і у повторному її використанні для сільськогосподарської діяльності, де навіть у зрошених посівах виявляються токсичні концентрації іонів металів. Так, за даними ООН, понад 80 % світових стічних вод викидається у навколишнє середовище без попереднього очищення [5,45,46]. Іншою проблемою є антропогенне забруднення підземних прісних вод, які вважаються відносно вільним від патогенного впливу, що свідчить не лише про локальні екологічні кризи, а і про значну глобалізацію даної проблеми [3,44,46]. У своїх дослідженнях автори повідомляють про оцінку якості підземних вод та ризиків для здоров'я у таких країнах як Пакистан, В'єтнам, Індія, Бангладеш, Китай, Камбоджа та інші, в Південно-Східній Азії виявлено значний кумулятивний дисбаланс Cr, Co, Mn, Ni, Zn, Cd, Cu, Pb та As [46]. Окрім, властивостей води, ВМ справляють свою токсичну дію водну флору і фауну. Так, було виявлено, що важкі метали пов'язані зі змінами популяції риб та пригнічення росту водоростей [3,37,46].

Іншою проблемною складовою екосистеми є атмосфера, де забруднюючі речовини можуть транспортуватися на великі відстані. Геогенна (піщані бурі, вулканічну активність та вивітрювання гірських пор) та антропогенна (урбанізації та індустріалізації) активність супроводжується потраплянням у повітря ксенобіотиків у вигляді частинок, пилу, крапель, а також у газоподібній формі з частинками чи краплями [3,48,49]. Важливо, що радіус забруднення та міграції ВМ залежить одразу від декількох факторів, таких як висота та тип вивільнення у довкілля, температура та волога середовища, клімат та вітряні потоки [3,49,50]. Важливий внесок у розуміння даної проблематики внесли Суварapu Л. та Баек С., які у своїх дослідженнях проаналізували близько 70 найпопулярніших робіт з даної тематики та прийшли до висновку, що найчастіше повітря забруднюють Al, Pb, Ni, Cu,

Hg, Cd, Zn, As, Mn, Cr, As, Cd and Ni, а основними джерелами їх генерації є викиди транспортних засобів та хімічних виробництв (спалювання вугілля, металургійна промисловість та інше) [50]. Інші ж дані вказують залежність між забрудненням повітря ВМ та пилом від будівництва доріг, будівель та метро. Так, у залежності від типу будівництва, виявлялось надмірне збагачення повітря кадмієм, цинком, міддю, свинцем, ртуттю, хромом та нікелем [51,52]. Високі концентрації Cd, Cr, Cu, Pb і Zn у вигляді частинок різного розміру виявляються і в повітрі поблизу гірничо-металургійному районів [51-53]. Також, біохімічна та геохімічна рівновага атмосфери порушуються за рахунок нафтохімічної, сільськогосподарської та фармацевтичної промисловості [49,50,53]. Ще одним джерелом забруднення атмосфери є спалювання вугілля та етилового бензину. Саме ця індустріальна технологія вважається основним розширювачем свинцю в повітрі китайських мегаполісах протягом останніх двадцяти років [52]. Базуючись на негативній тенденції до забруднення довкілля, Всесвітня організація охорони здоров'я та Агентство з охорони навколишнього середовища прийняли стандарти та рекомендації щодо якості повітря для різних забруднювачів як інструмент управління якістю повітря. Разом з цим, активно ведуться щодо моніторингу і контролю викидів ВМ металів в атмосферу, а також можливих шляхів природньої фіторемедіації у забруднених ВМ районах [49-52]. Також, застосовуються спеціальні технологічні засоби контролю мінімальних стандартів забруднення повітря з урахуванням джерела та природи викидів, таких як каталітичні нейтралізатори для автомобілів або закриті системи вентиляції для промислових підприємств можуть, встановлених законодавством. Базуючись на вищесказаному, причиною пошуків для стандартизації викидів антропогенного походження у повітря на законодавчому рівні стало зростання світової смертності до 9 мільйонів на рік, що на пряму пов'язане з забруднюючими джерелами [53,54].

Отже, погіршення якості глобальної планетарної екосистеми здатне порушувати взаємодію всіх її компонентів, а також формувати незбалансованість біогеоценозу між абіотичними факторами та живими організмами. При цьому, джерелом даної проблеми є саме людська діяльність, яка відображається на погіршенні стану навколишнього середовища, а останнє впливає як на всі живі організми та рослини [3,24,35,38,44,53]. З іншого боку, негативні наслідки дії ВМ надзвичайно важко передбачити, що зумовлено специфікою їх комбінацій та концентрацій, джерел забруднення і механізмів контакту з організмом характерних для окремо взятого регіону [23,35-39,45,48,49,52]. Так, метали-мікроелементи можуть потенційно загрожувати здоров'ю як при безпосередньому впливі (через повітря або через воду), так і через харчовий ланцюг. Біоаккумуляція ВМ у ґрунтах та водних об'єктах сприяє біодоступності токсичних елементів для рослин, мікроорганізмів, наземних та водних макроорганізмів з наступним потраплянням до людини. Отже, шляхами надходження ВМ до організму відбувається через заражену їжу, питну воду та повітря, а також через шкіру та слизові оболонки [22-24,35,38,41,44,55-57].

1.2. Характеристика впливу важких металів на організм.

Потрапивши до організму, такі необхідні поживні мікроелементи як кобальт, мідь, хром, залізо, магній, марганець, селен і цинк у слідових концентраціях будуть використанні у біохімічних і фізіологічних функціях, так як вони є складовими багатьох ферментів і окисно-відновних реакцій [4,8,56]. На відміно від есенціальних хімічних елементів, потрапивши до організму, абіотичні метали частково виводяться, а частково потрапляють до кровообігу з подальшим накопиченням в життєво важливих органах, чим можуть порушувати метаболічні функції організму різними способами. Варто зазначити, що в аномальних концентраціях або при дисбалансі співвідношення есенціальних іонів металів, мікроелементи також здатні

набувати токсичних властивостей та мати більш непередбачувані наслідки для організму, що призводить до пошкодження клітин і тканин та інших несприятливих гострих або хронічних ефектів й захворювань [3,5,35,44,49, 56-58]. Більш того, недостатнє їх надходження також супроводжується патологічними станами та дефіцитами [5,36,37]. На тлі поліелементної адитивної контамінації металоеlementи можуть пригнічувати та/або стимулювати один одного, що характеризується зміною їх властивостей, варіаціями їх вмісту та концентрацій [3,24,35,55,57]. Також, складною є взаємодія ВМ з різними групами організмів (рослини, тварини, люди та мікроорганізми), де деякі метали-мікроelementи вважаються необхідним для певної групи, і в той час, несуттєвим для іншої [3,5,8,57].

В організмі метали-мікроelementи транспортуються і розподіляються в клітинах і тканинах організму, відіграють важливу роль у окисно-відновних реакціях, стабілізації клітинних органел, мембран, мітохондрій, лізосом, структурах ядра, ДНК і ядерних білків, ферментів та інше [23,46,58]. Вони можуть діяти як ко-фактори або інгібітори у ферментативних шляхах [35]. Загалом, ряд гострих і хронічних токсичних ефектів отруєння ВМ може мати кілька наслідків для організму, таких як розлади нервової системи, дисфункція шлунково-кишкового тракту, нирок, сечового міхура, ураження шкіри, ураження судин, дегенеративні хвороби кісток, дисфункція імунної системи, вроджені вади та рак [3,4,9,35,56,59]. Дослідники пов'язують ксенобіотики з порушенням функцій центральної нервової системи, що проявляється як деменція, бічний аміотрофічний склероз, затримка нервового розвитку, хвороби Паркінсона Альцгеймера) [58,60,61]. Так, хронічне накопичення ВМ у тканині мозку супроводжується нейрозапаленням, пригніченням гомеостатичних та нейропротекторних каскадів (включаючи глутамат/ГАМК-глутаміновий човник), антиоксидантних механізмів та енергетичного метаболізму різних структур мозку (зубчастого ядра, поясної звивини, гіпокампу, моторної кори, астроцитів та інше), що комплексно пов'язане з руховими та когнітивними нейродегенеративними порушеннями

[60-63]. Окрім цього, тривала токсичність ртуті здатна викликати інші неврологічні ураження, включаючи атаксію, м'язову слабкість, оніміння кінцівок, порушення мови, жування, ковтання, посилені сухожильні рефлекси [59]. Хронічний вплив металоїдів також проявляється порушенням резистентності мікробіоти кишечника та зміною її складу, що супроводжується збільшенням абсорбції металів (наприклад As, Cd або Pb) шлунково-кишковому тракті та зменшенні їх екскреції з калом [64]. Це, в свою чергу пригнічувало детоксикаційні механізми з подальшим накопиченням ВМ у внутрішніх органах [35,56,64]. Гостра ж дія високих доз ВМ (зокрема ртуті та свинцю), може супроводжуватися гострим болем у животі, кривавою діареєю та рвотою [4,8,58,59]. В той же час, інтоксикація нікелем може призвести до виразки шлунка або раку, будучи важливим ко-фактором ферментів ([NiFe]-гідрогенази та уреазі пов'язаних з His, Cys та Asp) бактерій *Helicobacter pylori*, з наступним порушенням окислювально-відновного дисбалансу і онкогенною стимуляції [35]. Експозиція ксенобіотиками, такими як хром, кобальт, свинець, ртуть, миш'як, кадмій, нікель та інші, на респіраторний тракт частіше за все супроводжується пошкодженням легень та подразнення дихальних шляхів. Так, у залежності від часу дії ВМ на організм, їх токсичність може призвести до легеневої кровотечі, хронічних хрипів, астми, запалення легень, порушення бар'єрних функцій, надлишкової продукції слизу, зниження функції легень, пневмонії та фіброзу. Що цікаво, мукоциліарний кліренс створює бар'єр для певних металоїдів і повністю блокує їх дію, однак хронічний вплив веде до виснаження захисних функцій. З іншого боку, такі метали як хром та марганець, здатні вражати легені потрапивши до організму через абсорбцію в шлунково-кишковому тракті [3,57,59,65]. Окрім цього, незважаючи на те, що токсичність ВМ широко відома, їх мутагенні властивості залишаються непередбачуваними, хоча уже давно доведено, що довготривала дія поллютантів корелюється з зростанням ризиків розвитку раку легень людей, які проживають в урбанізованих районах [46,65-67].

Токсичність ВМ здатна проявлятися і на органах сечовидільної системи. Найчастіше, у такий процес залучені нирки та сечовий міхур, однак механізм їх враження дещо відрізняється. Так, метали разом з кров'ю потрапляють у нирки та здійснюють прямий вплив на ниркові клубочки. В залежності від виду ксенобіотика та його концентрації, у нирках може розвиватися як гостра, так і хронічна недостатність [57,63,64,68]. Зазвичай, у людей з екологічно несприятливих локацій, нефротоксичність проявляється за останнім типом. Поглинання ВМ у надмірних концентраціях призводить до ураження клітин ниркових каналців, інтерстиційного запалення, фіброзу, гломерулосклерозу та зниження функціональної маси нирок. Також, токсичні металоїди витісняють вихідні іони з вибраних білкових ділянок у клітинах ниркових каналців і порушують їх нормальні фізіологічні функції як на клітинному, так і на молекулярному рівнях, що супроводжується зниженням швидкості клітинної фільтрації та виразною тубулярною протеїнурією [47,57,64,68,69]. Разом з цим, сечовий міхур зазнає подвійної дії ВМ через кров та через екскретовану сечу збагачену іонами металів [57,64,70-72]. Так, уротоксичність ВМ пов'язують з дегенеративно-атрофічними змінами слизової оболонки з запальною інфільтрацією [70]. При цьому, онкогенна патологія обох органів також доволі часто асоціюється з канцерогенністю металів. Так, спектрофотометричний аналіз та рентгенівський елементний мікроаналіз допомогли встановити, що високі концентрації ВМ акумулювались саме у пухлинній тканині, у порівнянні з прилеглими не раковими тканинними зразками [72-74].

Виявлено також зв'язок ВМ з метаболічними розладами. Так, накопичення ліпідів, вісцеральне ожирінням, дисбаланс показників антропометричних вимірів корелював з зростанням концентрацій свинцю у крові, а також нікелю, хрому, марганцю, миш'яку та мідь у сечі [75]. Загалом, у якості біоіндикаторів дисбалансу рівнів ВМ в організмі використовують саме кров, сечу, кал, волосся та нігті, а їх вміст корелює з тяжкістю захворювання [64,71,74]. Окрім спектрофотометричного аналізу, змінюються

і біохімічні показники, що може проявлятися різким дисбалансом рівнів аланінамінотрансферази, аспартатамінотрансферази, вмісту загального білка гамма-глутамілтрансферази, сечової кислоти і креатиніну в сечі [59,64]. В той же час, відбувається збільшенні тромбоцитопоезу, пригнічення еритропоезу та лейкопоезу, що відобразилося на зменшенні кількості еритроцитів, лейкоцитів та гемоглобіну, а також збільшилася кількість тромбоцитів. Ці зміни у крові супроводжується морфологічними трансформаціями у кістковому мозку та його виснаженням [76]. Також, доведено, що окрім паренхіматозних органів, ВМ здатні акумулюватися у м'язовій, жировій та кістковій тканинах, порушуючи, при цьому, їх фізіологічні властивості [77].

Окрім цього, дія екзогенних металоїдів негативно відображається на ендокринних органах та гормональних порушеннях, беручи участь у регулюванні їх функцій [78,79]. Так, пошкодження клітин підшлункової, передміхурової та щитоподібної залоз, наднирників, яєчків, яєчників або гіпофіза, а також аномальна їх секреторна активність може призвести до затримки росту, затримки розумового розвитку людини, порушення водно-сольової регуляції, цукрового діабету, тиреотоксикозу, зниження репродуктивної здатності, пухлинного ураження та інших патологій. При цьому, на тлі такої чутливості ендокринних органів до поллютантів, може порушуватися генерація гормонів відповідних органів (тиреотропного, соматотропного, адренкортикостероїдного, фолікулостимулюючого та лютеїнізуючого гормонів, трийод- та тетраїодтироніну, пролактину, естрадіолу та прогестерону, тестостерону та інсуліну, кортизолу та інших) та органів-мішеней, що можна також використовувати як ранні біомаркери токсичності металів [77-82]. Однак, причинно-наслідковий зв'язок між варіацією рівнів експресії гормонів (пригнічення або гіперсекреція) та трансформацією в органах практично не можливо передбачити, що зумовлено варіаціями існування, комбінацій ВМ та їх концентрацій [80].

На противагу вищесказаному, механізми взаємозв'язку токсичності ВМ та порушення чоловічого та жіночого репродуктивного здоров'я на генетичному, епігенетичному та біохімічному рівнях на порядок складніші та різносторонні. При цьому, патогенетичні ланки розвитку репротоксичності залежать одразу від декількох факторів, таких як стать, стадії гаметогенезу, фази циклу (естрального та менструального), стадії розвитку ембріона, віку, спосіб життя харчування, спадковості, типу та гомеостазу металу [24,28,30,31,83]. Так, згідно з літературними джерелами, існує залежність професійного впливу ВМ та зниженням чоловічої фертильності. Наявність завищеного рівня іонів металів у крові та сечі супроводжується погіршенням якості, рухливості та морфології сперми, гормонального рівня (пригнічення ФСГ і тестостерону), атрофією інтерстиціальних клітин, фіброзом інтерстицію, дисбалансом окислювально-відновного потенціалу, акросомної реакції, індексу фрагментації ДНК та конденсації хроматину, що відображалось на зростанні показників чоловічого безпліддя та пухлинах яєчок [84-86]. При цьому, варто відмітити, що особи чоловічої статі зазнають більш значного зниження фертильності зумовленої інтоксикацією ВМ, у порівнянні з гризунами та великою рогатою худобою [86].

У той же час, у жінок забруднене довкілля сприяє розвитку метал-індукованих репродуктивних розладів усіх органів даної системи, включаючи розвиток, дозрівання, ендокринні та функціональні порушення, що у кінцевому підсумку веде збільшення причин жіночого безпліддя або онкологічної патології [83]. Наслідки гострої або тривалої експозиції ВМ на організм можуть також проявлятися у вигляді ендометріозу, аденоматозу, порушення менструального циклу, гормонального дисбалансу, атрезії фолікулів, зниження чутливості ендометрія та міометрія, затримки дозрівання яйцеклітин, атрофії слизової оболонки матки, відсутності належної імплантації, спонтанних абортів, передчасних пологів, ембріотоксичності, мертвонароджень та прееклампсії, а також раку ендометрію, молочної залози та яєчників, а також патологій у менопаузі

[11,83,86-89]. При цьому, найбільш дослідженими прикладами незамінних у невеликих кількостях (однак токсичних у вищих концентраціях або в інших формах) та токсичних ВМ пов'язаних з фертильністю та канцерогенністю у жінок є Pb, Hg, Fe, Cd, Mn, Ni, Zn, Cr, Cu, Ag, Fe, Pd, Pt, As та Se [57,86,87]. Вони здатні брати участь у змінах експресії генів і модифікувати фізіологічні епігенетичні механізми, які включають метилювання ДНК, модифікацію гістонів, викликати пошкодження генома та змінювати клітинний цикл, регуляцію РНК та ДНК, репарацію, транскрипцію, сплайсинг, кількість копій гена та активацію транспозона, внутрішньоклітинне глутатіон-реактивне окислення, активізація білків (наприклад, білки антиоксидантного стресу теплового шоку, альфа-В-кристаллін і легкий ланцюг феритину) і ферментів (наприклад, альдозоредуктаза, гемоксигеназа-1), а також зниження рівня гліколітичного ферменту, гліцеральдегід3-фосфатдегідрогенази та інактивації сигнальних шляхів позаклітинних кіназ [11,87,89]. Крім того, ВМ можуть виступати конкурентними інгібіторами, що призводить до витіснення основних іонів зі своїх цільових місць. Разом з цим, вплив ВМ здатні порушувати експресію генів, маніпулювати генерацією та активністю стероїдних гормонів (наприклад, естрогеноподібна активність – металоестроген) в якості ендокринних деструкторів та спотворювати рецепторну чутливість органів-мішеней до них. Окрім цього, токсиканти спроможні імітувати інші іони, посилювати окислювальний стрес та модифікувати клітинні сигнальні шляхи, тим самим впливаючи на цілий ряд фізіологічних та патологічних (дедиференціювання клітин) процесів, які беруть участь у діяльності репродуктивних органів та гормональному гомеостазі [35,83,84,89,90]. ВМ також здатні впливати на експресію генів, та некодуючих мікроРНК. Деякі ВМ здатні порушувати роботу ендокринної системи відповідальної за репродуктивне здоров'я як у жінок, так і у чоловіків. Так ВМ часто згадуються як нейроендокринні руйнівники, які можуть виступати в ролі модуляторів метаболізму або синтезу нейромедіаторів або нейрогормонів, порушуючи тим самим виробництво,

секрецію, розподіл, метаболізм, виведення, зв'язування та активністю природних гормонів та їх рецепторів. Ці гормональні зміни можуть супроводжуватися розвитком хронічних захворювань, порушенням менструального та естрального циклів, стероїдогенною дисфункцією, аномаліями плода, ембріотоксичністю і безпліддя, яким страждає 15 % населення планети, а інколи, можуть передаватися наступному поколінню [89,91]. Більш того, ці екзогенні хімічні речовини також можуть сприяти розвитку інших захворювань (ожиріння, діабет і рак органів ендокринної системи) порушуючи тим самим репродуктивне здоров'я. У той же час у жінок, вплив хімічних речовин, що порушують роботу ендокринної системи характеризується дисфункцією яєчників, поліпами матки, вагінальним аденоматоз, зниженням фертильності та синдромом полікістозних яєчників у жінок [89,91,92]. Більш того, токсичні хімічні елементи здатні долати і плацентний бар'єр через свій розмір і заряд (подібний до основних мікроелементів), створюючи ризик порушень розвитку плода [89].

Хоча основні патогенетичні механізми впливу ВМ на організм є відомими, не повністю з'ясованими залишаються шляхи розвитку багатьох патологій органів і систем, що значно ускладнює прогнозування їх перебігу. Більш того, якщо токсичність при низьких концентраціях експозиції таких металів як кадмій, свинець, ртуть та металоїдний миш'як є більш менш зрозумілою за рахунок їх цитотоксичних, канцерогенних та генотоксичних ефектів, то необхідні (есенціальні) елементи (мідь, цинк, марганець, залізо тощо) у надмірних концентраціях можуть заплутано діяти через складні прямі та непрямі шляхи (реакція типу Фентона, або виснаження антиоксидантних систем), що зумовлено їх обов'язковою фізіологічною участю у життєдіяльності організмів [3,56,57].

Однією з головних патогенетичних ланок дії ВМ є розвиток оксидативного стресу, який супроводжується гіперпродукцією вільних радикалів, реактивних форм кисню, реактивних форм азоту і перекисного окислення ліпідів, що на тлі дисбалансу антиоксидантних механізмів. Стрес

супроводжується порушенням цілісності клітинної стінки та енергокисневого обміну, утворенням патологічних ковалентних зв'язків та індукцією структурних конформаційних змін, пошкодженням клітинних макромолекул, дестабілізацією клітинного поділу (апоптозу та проліферації), порушенням експресії генів (блокування сигнальних шляхів), імунною відповіддю, хромосомними абераціями, патологічним метилюванням та пошкодженням ДНК [3,56,80,86,89,93].

Зазвичай, у гомеостатичних умовах, вільні радикали лише у низьких концентраціях циркулюють в організмі та активуються сигнальними шляхами, пов'язаних з поділом клітин, запаленням, аутофагією та реакцією на стрес [93]. Активні форми кисню можуть бути метаболічно корисними, взаємодіяти з виживанням клітин або шляхами їх загибелі на транскрипційному або трансляційному рівні. Рівні їх ендогенної генерації (мітохондріальним ланцюгом транспорту електронів, ендоплазматичним ретикулумом, пероксисомами, циклооксигеназою, ліпоксигеназою, ксантиноксидоредуктазою, ізоформами 1-5 НАДФН оксидази та синтаз оксиду азоту) контролюються ферментативними (супероксиддисмутаза, каталаза, глутатіонпероксидаза) і неферментативними (вітамін С, вітамін Е, каротиноїди, мікроелементи (селен, марганець, цинк), флавоноїди, глутатіон, L-аригінін, коензим Q10, мелатонін, омега-3 і омега-6 жирні кислоти, тіолові антиоксиданти (глутатіон та тіоредоксин)) антиоксидантами, які каталізують дисмутацію супероксидних радикалів на кисень, воду і перекис водню. Вони є компонентами першої лінії захисту для підтримки окислювально-відновного гомеостазу від окисного стресу. При цьому варто відмітити, що такі метали-мікроелементи як цинк, мідь, марганець та залізо входять до складу даних антиоксидантів [94-96]. У той же час, опромінення токсичними металами (Cd^{2+} і Pb^{2+}) може супроводжуватися дефіцитом основних металів, таких як Zn^{2+} і Cu^{2+} , а також знижувати рівень антиоксидантних ферментів і вітамінів [86]. На сьогодні, основними сигнальними шляхами

окислювального стресу вважаються NF- κ B, Nrf2, JAK-STAT, JNK, PTEN/Akt, RPT1B/EGFR, HSP90/HSF1, Keap1, NADPH та HIF [93,94].

Відомо, що на тлі дефіциту антиоксидантів чи хронічних захворювань чи дії токсикантів відбувається зростання рівня атомів з негативно зарядженим електроном у вигляді молекули кисню (вільних радикалів), що сприяє порушенню окислювально-відновної регуляції та розвитку окислювального стресу. Вільні радикали утворюються з таких прооксидантів або оксидантів як реактивні форми кисню (опосередковано) та реактивні форми азоту (не опосередковано). Приклади радикалів включають супероксид (O_2^-), радикал кисню (O_2^{\cdot}), гідроксил (OH \cdot), алкоксирадикал (RO \cdot), пероксильний радикал (ROO \cdot), оксид азоту (NO \cdot) та діоксиду азоту (NO $_2\cdot$). До нерадикальних видів (не опосередковано можуть легко призвести до вільнорадикальних реакцій) належать перекис водню (H $_2$ O $_2$), хлорноватиста кислота (HOCl), гіпобромна кислота (HOBr), озон (O $_3$), синглетний кисень (1O_2), азотиста кислота (HNO $_2$), нітрозил-катион (NO $^+$), нітроси-аніон (NO $^-$), триоксид азоту (N $_2$ O $_3$), чотириокис динітрогену (N $_2$ O $_4$), катион нітроній (NO $_2^+$), органічні пероксиди (ROOH), альдегіди (HCOR) та пероксинітрил (ONOOH) [94-96]. Вони часто можуть реагувати з біологічними системами, втрачаючи один або кілька електронів і утворюючи катіони металів, які мають спорідненість з нуклеофільними ділянками життєво важливих макромолекул [59].

На сьогодні, детально вивчена токсичність ВМ починаючи від бактерії до людського організму, змінюючи клітинні процеси, індукуючи структурні модифікації і опосередкованих пошкоджень [3,94,97]. Так, за схожим механізмом з макроорганізмами основні біомолекули та субклітинні органели руйнуються під дією реактивних видів кисню, що спричиняє пошкодження ДНК та дестабілізацію цілісності мембрани через перекисне окислення ліпідів формувати патологічні ковалентні зв'язки та індукувати структурні конформаційні зміни. Варто відмітити, що деякі бактерії (*Acinetobacter baumannii* та інші) володіють пристосувальними

детермінантами стійкості (вивільнення іонів металів позаклітинними бар'єрами, екструзія за допомогою рефлюксних насосів або шляхом дифузії, внутрішньоклітинна та позаклітинна секвестрація, детоксикація, зниження чутливості клітинних мішеней до металів) [97,98].

У літературі детально описано, що дисбаланс редокс систем відбувається шляхом прямого пригнічення основних захисних (антиоксидантних) ферментів та посиленою генерацією вільних радикалів. Так, дисбаланс клітинного окислювально-відновних механізмів є одним із основних наслідків впливу ВМ, а також центром токсичності, мутагенності і канцерогенності пов'язаних з ними [56,94,95]. У відповідь на це відбувається порушення циркадних ритмів, посилене вироблення окислювачів та індукція окисного стресу, які в подальшому порушують широкий спектр біохімічних реакцій всього організму [93].

Ще одним аспектом впливу металоїдів є їх канцерогенна і мутагенна дія. Роль ВМ у розвитку раку повністю не розкрита, однак відмінності в їх концентраціях між нормальною та раковою тканинами наголошують на важливості даної проблеми. При цьому, їх токсичність і канцерогенність залежать від типу металу, дози, шляху і типу хімічного впливу, тривалості експозиції та, навіть, статті і віку. На основі епідеміологічних, клінічних, *in vitro* та *in vivo* досліджень встановлено, що канцерогенність ВМ проявляється у вигляді аберантних змін в геномі, порушенні експресії генів, синтезу і відновлення ДНК, розвитку оксидативного стресу, накопичення мутацій, інактивації генів-супресорів пухлин або активації онкогенів, дисбалансу клітинного поділу, включаючи ріст, ангіогенез, проліферацію, диференціацію, процеси відновлення пошкоджень та апоптоз через активацію p53 і проапоптотичних генів [59,67,89,91]. Наприклад, алюміній, мідь, кобальт, нікель, олово, хром, свинець і кадмій визнані металоестрогенами, які важливі для ініціювання раку яєчників, ендометрію та шийки матки, пов'язаного з гормонами [80,81,89,99,100]. Так, неорганічні іони ВМ приєднуються до рецепторів естрогену (через взаємодію

високопорядненого металу з гормон-зв'язуючим доменом рецептора) та індукують їх подальшу активацію, що в супроводжується пригніченням проліферації клітин і збільшенням транскрипції та експресії генів. Довготривалий несуперечливий вплив псевдоестрогену призводить до гіперплазії ендометрію, що підвищує ризик розвитку атипової гіперплазії та, зрештою, раку ендометрія 1-го типу [99,100]. З іншого боку, індуковані ВМ зміни в матці можуть проявлятися атрофією та дегенерацією ендометрію з запальними зміни, що також може стати предиктором неоплазії в майбутньому [99,100]. Більш того, ВМ здатні впливати на епітеліально-мезенхімальний перехід, порушуючи їх транс-диференціювання і стимулюючи прогресування раку. У той же час, автори відмічають небезпеку не тільки металів з естрогенно подібною дією, а також і Zn, Cu та Fe, які проявляють канцерогенну активність через порушення окисно-відновних механізмів [4,8,98-100].

Отже, існує ціла мережа сигнальних шляхів через яку ВМ проявляють свої позитивні та негативні ефекти на організми. При цьому, передбачити наслідки їх дії на окремі органи чи системи майже не можливо, так як каскад реакцій в організмі на потрапляння хімічних елементів залежить як від його індивідуальних адаптативно-компенсаторних механізмів, так і від характеристик кожного окремого представника групи «важких» металів.

1.3. Особливості анатомо-фізіологічної будови матки.

Синергічне функціонування зовнішніх і внутрішніх органів жіночої репродуктивної системи є важливою умовою для забезпечення існування виду та його розмноження [101-103]. Відтак, щороку з'являються сучасні дані, які розкривають нові аспекти будови та функцій жіночих статевих органів на морфологічному й молекулярно-генетичному рівнях, а також деталізують шляхи розвитку репродуктивної патології [101,103,104–106]. У контексті погіршення репродукції виду і зростання показників захворюваності різноманітного генезу особливу увагу привертають роботи

присвячені дослідженню матки [101,104,105,107-109]. Загалом, такий інтерес зумовлений винятковими особливостями будови та функцій органа, так як матка відіграє надзвичайно важливу роль у розмноженні, що включає процеси дозрівання запліднених яйцеклітин, внутрішньоматкового транспорту сперматозоїдів, імплантації, утриманні і живленні зародка з наступним його евакуацією з організму під час пологів [101,110].

Функціонування матки, а саме двох основних її шарів ендометрію та міометрію, залежить від взаємодії між ендокринною та центральною нервовою системами за рахунок рівнів статевих гормонів (естрадіол, прогестерон, лютеїнізуючий гормон, фолікулостимулюючий гормон, тестостерон, пролактин та інші) [102,104,106,110,111]. У людей, під впливом зміни гормонального ендокринного середовища відбуваються комплексні циклічні зміни у всіх структурних компонентах матки, що залежать від фаз менструального циклу (десквамації (або менструації), проліферації та секреції) [110,111]. Синтез статевих гормонів у яєчнику та їх вплив на рецептори клітин-мішеней в ендометрії та міометрії матки підпорядкований гормонам гіпофізу. Так, під час домінування естрадіолу у фазі проліферації (фолікулярна та овуляторна фаза оваріального циклу) відбувається екстенсивне розростання ендометрію. При цьому, початком овуляторної фази вважається сплеск рівня лютеїнізуючого і фолікулостимулюючого гормонів на тлі високих рівні естрогену. У цей час овоцит вивільняється з фолікула яєчника, починається активна генерація прогестерону та пригнічення естрогену, що свідчить про початок секреторної фази (лютеїнова фаза оваріального циклу). У пізній фазі секреції відбувається регресія жовтого тіла і вироблення прогестерону зменшується, що супроводжується апоптозом, вивільненням медіаторів запалення та індукцією експресії матриксної металопротеїнази у функціональному шарі ендометрію. Ці зміни свідчать про початок менструальної фази (фолікулярна фаза оваріального циклу), яка характеризується десквамацією клітин поверхневого шару ендометрію на тлі низьких рівні естрогену та прогестерону. Опісля, даний

шар регенерує у фазі проліферації [101,102,110-114]. У той же час, овуляція відбувається після зростання рівнів лютеїнізуючого гормону у період між проліферативною та секреторною фазами [111,113-115].

На відміну від репродуктивного циклу у жінок (яєчниковий та матковий цикл), цикл гризунів є поліестральний та складається з проеструса, еструса, метеструсу та діеструса (рис. 1.1) [112-115]. У гризунів естроген і прогестерон діють через ER та PR, експресовані в ядрі. Обидва рецептори мають два різних підтипи, а саме ER α /ER β та PRA/PRB та експресуються в матці. При цьому, опосередкована функція матки в основному опосередкована ER α та PRA [116]. Так, з настанням фази проеструсу, рівень естрогену в організмі прогресивно зростає через ріст фолікулів, а досягаючи свого піку – починає плавно знижуватися в кінці даної фази. Одночасно зі зниженням естрогену відбувається стрімке зростання рівня прогестерону, з наступним його зниженням перед початком фази еструсу. Фаза еструсу починається з овуляції, яка обумовлена синтезом лютеїнізуючого і фолікулостимулюючого гормонів на прикінці проеструсу на тлі флуктуації естрогену, пролактину та прогестерону. У момент овуляції рівні естрогену та прогестерону знижуються, що сприяє зростанню тонуусу матки та продукції слизу. Надалі, відбувається помірне повторне зростання прогестерону з початком метеструсу та з наступним його зниженням у діеструсі. При цьому, фаза метеструсу настає при відсутності зачаття. Гормональні рецептори у клітинах слизової оболонки матки (в епітеліальній та власній пластинках) отримують сигнали, які слугують пусковим механізмом для структурних циклічних трансформацій. Так, впродовж циклу змінюється висота епітелію – від кубоїдального до високого стовпчастого, а з переходом проеструсу в еструс відбувається посилена васкуляризацією, потовщення власної пластини ендометрію зі збільшенням кількості та активності залоз [112-116].

Порівнюючи менструальний цикл людей та естральний цикл гризунів, варто відмітити, що фаза проеструсу у тварин відповідає стадії проліферації у людей, початок еструсу – овуляції, метеструс – ранній стадії секреції з

наступним зниженням гормональної активності у випадку відсутності запліднення; дієструс – пізній стадії секреції або період спокою. При цьому, фаза менструації з десквамацією ендометрію у гризунів відсутня, поверхневий шар дегенерує і повністю відновлюється [107,110-115].

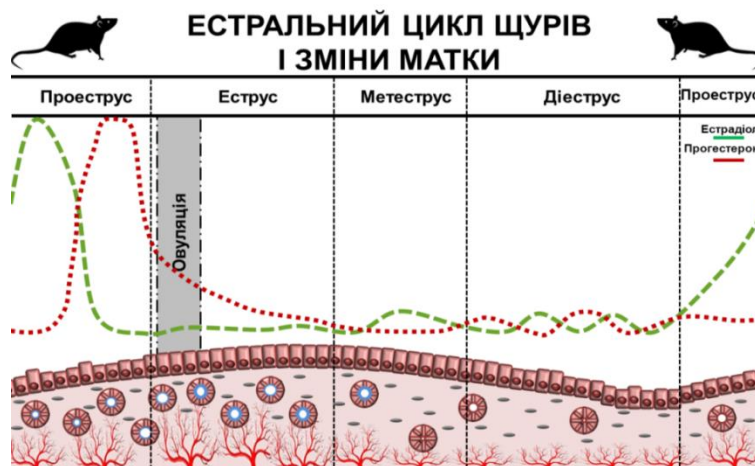


Рисунок 1.1. Фази естрального циклу у щурів [112].

При цьому, середня тривалість естрального циклу у самок білих лабораторних щурів триває 4-5 днів. Так, фаза проєструсу триває 12-14 годин, еструсу – 24-48 годин., метеструсу та дієструсу – 6-8 і 48-72 годин, відповідно [112-114]. Неінвазивні методи встановлення фаз базується на специфічності клітинних елементів у піхвовому мазку, аналізі слини, та поведінці гризунів (сексуальний інтерес до самця виключно під час овуляції – фаза еструсу) [113-115]. Враховуючи складність багаторазового відбору проб стероїдних гормонів у плазмі гризунів, основним методом класифікації стадії тички є ідентифікація типів вагінальних епітеліальних клітин. Більш того, фаза еструсу макроскопічно проявляється розкриттям піхви під час овуляції (зумовлено зростанням продукції естрадіолу), набряком вульви та виділеннями [113]. При дослідженні вагінальних мазків кожна фаза чітко характеризується якісним та кількісним складом. В основному, вагінальний мазок представлений слизом з поліморфоядерними лейкоцитами, ядерними та без'ядерними ороговілими епітеліальними клітинами. Переважання певного типу клітин дає відповідь не тільки щодо фази естрального циклу та стану матки, а також про гормональний стан статевих гормонів в організмі.

При цьому, морфологічні особливості будови матки та функціональності ендометрію (товщина стінки, особливості будови та гормональної чутливості ендометрію) є максимально репрезентативними в естральній фазі. Базуючись на цьому, визначення фази статевого циклу та їх тривалості є елементом для експерименту та обладнання для проведення досліджень [113,115-118].

Анатомічно, матка є центральним органом серед внутрішніх жіночих статевих органів малого тазу включаючи піхву, шийку матки, матку, дві фаллопієві труби та два яєчники. Унікальність матки полягає і в тому, що за рахунок зумовленої вагітністю гіперплазії та гіпертрофії стінки органа, її розміри можуть виходити за межі малого тазу та досягати епігастальної ділянки [119]. У залежності від видової приналежності форма матки може відрізнятися. Так, у людини та приматів форма матки має «грушоподібну» форму (поділяється на дно, тіло, перешийок і шийку матки); у мишей, щурів, морських свинок – дуплексний тип матки (роги та розділені перегородкою подвійне тіло і подвійна шийка); у великою рогатої худоби, кіз, овець – двороздільна матка з невеликим тілом і єдиною шийкою [102,103,107,119,120,121]. Стінка матки вищезгаданих видів представлена слизовою (ендометрієм), м'язовою (міометрієм) та серозною (периметрієм) оболонкам [102,107,119,121].

Ендометрій людини та приматів є динамічною структурою та складається з верхнього функціонального (представлений покривним високим призматичним епітелієм, численними трубчастими залозами оточених пухкою стромою та судинним сплетеннями) та нижнього базального (представлений розгалуженими згорнутими залозами і щільною стромою) шарів здатних до відшарування, регенерації та реконструкції. При цьому, саме функціональний ендометрій втрачається під час менструації, а базальний є більш структурно стабільною структурою та не руйнується [110,121]. У той час як у естральних тварин слизова оболонка складається з епітеліальної та власної пластинок та повністю покриває матку з середини, часто утворюючи складки. Епітеліальний шар представлений секреторними

та в'їчастими клітинами, які формують високий одношаровий стовпчастий покривний епітелій розміщений над базальною мембраною, а також простим кубовидним залозистим епітелієм залоз оточених строמוю пронизаною численними судинами та імунними клітинами (лімфоцити, плазмоцити, моноцити). При цьому, залози гризунів звичайної трубчастої форми на відміну від скручених розгалужених залоз людей [102,110,112,119,121,122]. У гризунів фізіологічні перебудови в епітеліальному компоненті при естральній циклічності представлені зміненою висотою епітеліоцитів (включаючи траслокацію ядер) за рахунок їх прогресуванням або дегенерації (на тлі слабкої проліферації). Встановлено, що такі зміни в слизовій оболонці супроводжуються стимуляцією чи пригніченням продукції слизу, що покриває поверхню апікального епітелію та ендометріальних залоз. Епітелій матки є непроникним для більшості речовин та бактерій [105,106,111,112,121,122]. Цілісність шару епітеліоцитів забезпечується кількома основними факторами, такими як: десмосоми (розташовуються вздовж усієї латеральної плазматичної мембрани), які формують фізичний бар'єр; муцинові глікопротеїни (MUC1, MUC4 і MUC16), які розташовуються апікально для змащування слизової оболонки, формування бар'єру та захисту ендометріальних клітин; кадгерини (Е-кадгерин, В-катенін та ін.), які забезпечують клітинну адгезію; цитокератини (KRT7, KRT8, KRT18, KRT19), які є елементами цитоскелету клітини, та інші. У той же час власна пластинка ендометрію бере участь в адаптації матки до гормональних змін (естральні цикли та вагітність), формуванні залоз та у місцевій імунній відповіді [106,107,121-126]. Зміни в ендометрії підпорядковуються регуляції ендокринних гормонів з осі гіпоталамус-гіпофіз-яєчники, паракринних морфогенів, цитокінів і факторів росту, що генеруються складовими слизової оболонки (епітеліальні, стромальні та імунні клітини і судинна система [116]).

Міометрій має загальні спільні ознаки та складається з поздовжніх і циркулярних м'язових волокон, що утворені гладкими міоцитами, змішаних з ареоллярною тканиною, кровоносними судинами, лімфатичними судинами і

нервами [102,110,112,119,121]. Численні дослідження присвячені вивченню особливостей пристосовування до розтягнення м'язового шару матки під час вагітності та можливості витримувати високі навантаження (скорочення та розслаблення матки); залежності експресії мРНК окситоцину від рівня естрогенів; їх механічної активності під впливом пептиду, пов'язаного з геном кальцитоніну, і молекул сімейства нейрокінінів (субстанція Р, нейрокінін А і нейрокінін В), дисбалансу кальцієвий каланів, Rho-Kinase, Protein Kinase-C і Phospholipase-C та інших [104,107,112,127,128]. Окрім цього, доведено, що м'язи тазового дна та його органів, а також анатомія та архітектура зв'язок таза подібні у гризунів і людей. Це пояснюється наявністю спільної гомології між висококонсервативними некодованими генами розвитку, які регулюють диференціацію ембріонального парамезонефрального протоку в жіночі репродуктивні органи під їх час розвитку. Так, в структурі даних генів кодується ідентичність тканин і загальний план будови органів, хоча спільна гомологія генів не забезпечує аналогічної відповідності між видами [129,130].

Важливо відмітити, що під час виконання основної функції матки – вагітності, окрім реакції слизової оболонки на імплантацію плідного яйця, зміни відбуваються і у інших структурних елементах. Доведено, що під час безпосередньої функціональної активності, матка зазнає трансформацій будови в межах фізіологічної норми, що включає зростання еластичності (за рахунок колагену) матки з трансформацією архітектоніки судин для покращення пливу крові збагаченої поживними речовинами та збільшення її розмірів та ваги. У ході гормональних перебудов у стінці матки підвищується васкуляризація та кровоток, що є необхідними елементами для подальшої імплантації ембріона [131-133]. Разом з маткою, змін зазнає і мезометрій, який забезпечує фіксацію органа з черевною стінкою та містить маткові судини. Ремоделювання судин матки включає збільшення розтяжності їх довжини та діаметру, однак їх стінка під час вагітності не потовщується. Одразу ж після завершення природньої вагітності або відміни гормональної

терапії (штучне моделювання вагітності), відбувається фізіологічна інволюція матки і мезометрія [131]. Цікаво, що варіація поведінки артеріо-венозних судин та гемохоріальна плацентажія (материнська кров з'єднується з хоріоном плода) характерна як для людей, так і для щурів [121,131,133].

Окрім певної гормональної кореляції, за своєю морфологічною будовою та специфікою виконуваних функцій матка людини та лабораторних тварин дуже схожі. Основними відмінними ознаками є двоорога форма матки, наявність естрального циклу та відсутність *menses* у щурів. Також, існують певні відмінності будови артеріально-венозних анастомозів та зв'язок. Отже, враховуючи відсутність суттєвих анатомо-морфологічних і гістологічних відмінностей у будові матки щурів та людини, можна стверджувати, що біомоделювання патологічних процесів на щурах матиме схожі закономірності патогенезу, що й у людини. Унікальність будови матки щурів (на відміну від собак, свиней та приматів) як лабораторної моделі, їх доступність, економічність та коротка тривалість естрального циклу дозволяють моделювати різноманітні патологічні стани на цих тваринах за умов обмеження клінічних досліджень [101,103,107,112,113,118-120].

Отже підсумовуючи все вищесказане, стає зрозумілим, що зростаючий рівень забруднення довкілля ВМ зумовлює розвиток негативних змін у багатьох органах та системах організму. Разом з тим, морфологічні трансформації та порушення функцій матки за умов впливу ВМ на організм детально не вивчені, а механізми їх розвитку досить складні, враховуючи гормональну залежність цього органа. При цьому, доступних звітів, які б розкривали деталі ефективного застосування вітаміну Е для нівелювання або повного захисту матки на тлі дії одразу декількох ВМ все ще немає. Це, в свою чергу, підтверджує високу актуальність досліджень у цій області та акцентує увагу на необхідності розробки ефективних стратегій захисту довкіллям й вдосконалення підходів до профілактики та лікування екологічно обумовлених патологій матки.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1. Дизайн експеримента

Вивчення особливостей змін матки за умов дії полютантів проводилось на щурах у зв'язку анатомо-фізіологічною подібністю будови та функцій органа з людським [107,112,122]. При цьому, дослідження з моделюванням на тваринах мають багато переваг, а саме доступність експериментальних суб'єктів, можливість забору значної кількості зразків тканин, відтворення однакових умов, здатність проводити інвазивні та неінвазивні тести, стандартизація перебігу захворювання, можливість лікування та профілактики [112,113]. Більше того, коротка тривалість естрального циклу робить щура ідеальною твариною для дослідження змін під час репродуктивного циклу та у ході експерименту [112-114].

Для дослідження впливу забруднювачів довкілля, була обрана експериментальна суміш, що представлена комбінацією найпоширеніших потенційно-небезпечних та небезпечних СВМ у наступних концентраціях: *Цинк* ($ZnSO_4 \times 7H_2O$) – 5 мг/л; *Мідь* ($CuSO_4 \times 5H_2O$) – 1 мг/л; *Залізо* ($FeSO_4$) – 10 мг/л; *Марганець* ($MnSO_4 \times 5H_2O$) – 0,1 мг/л; *Свинець* ($Pb(NO_3)_2$) – 0,1 мг/л; *Хром* ($K_2Cr_2O_7$) – 0,1 мг/л. Перелік та вміст кожного ВМ відповідають попереднім звітам епідеміологічного обстеження забруднених північних регіонів України і світу [4,5,8,21,22,30,38,46,48,52,70,76]. Дизайн експерименту затверджено та погоджено Комісією з біоетики Медичного інституту Сумського державного університету. Суміш ВМ розчиняли у звичайній воді і готували кожні три дні. Підібрана суміш СВМ добавлялась у питну воду для щоденного раціону тварин відповідно моделі експерименту. Забруднену експериментальною речовиною воду наливали у поїлку для самостійного перорального вживання.

Для протидії впливу ВМ на матку ми використовували альфа-токоферол (вітамін Е) завдяки його антагоністичним протекторним

властивостям у середньодобовій профілактичній дозі (9,1 мг/кг до маси тіла щурів з урахуванням видових особливостей). Перерахунок дози для людини у дозу для щурів відбувався наступним чином: еквівалентна доза для тварин (мг/кг) = доза для людини (мг/кг) × співвідношення фактору корекції [135]. Виходячи з цього, враховуючи коефіцієнт видових особливостей щурів (6,0) і людини (37,0) при середній масі тіла людини (70 кг), дозу для щурів склали: $37,0/6,0 = 6,2$; $1,47 \text{ мг/кг} \times 6,2 = 9,1 \text{ мг/кг}$. Середня маса тварин становила $221,7 \pm 17,1$ г. Тому тварини отримували вітамін Е в середній дозі 2,02 мг на масу тіла щура. Тваринам вводили вітамін Е через ротовий зонд (щодня о 10.00) відповідно моделі експерименту. Даний коригуючий засіб вибраний на основі попередніх звітів та рекомендацій виробника [19,20,70,76,136].

Згідно запропонованого дизайну, поставленої мети та завдань, було сформовано три групи щурів та 10-ть серій з різним експериментальним сценарієм (табл. 2.1). Так, до **першої групи** (30-та доба експерименту) ввійшли три серії лабораторних тварин: *перша серія* (Кнтр) – інтактні щури, які упродовж 30-ть днів отримували звичайну питну воду, що відповідає санітарним нормам; *друга серія* (ВМ(30)) – щури отримували водний розчин із сумішшю ВМ упродовж 30-ти днів; *третья серія* (ВМ+Е(30)) – щури отримували комбінацію ВМ та вітамін Е упродовж 30-ти днів. **Друга група** (90-та доба експерименту) була представлена: *четверта серія* (Кнтр) – контрольні тварини, які вживали звичайну воду; *п'ята серія* (ВМ(90)) – тварини вживали питну воду забруднену ВМ упродовж 90-то днів; *шоста серія* (ВМ+Е(90)) – тварини одержували коригуючий засіб на тлі вживання води з ВМ упродовж 90-то днів. **Третя група** (відновлення – 180-та доба експерименту) формувалась з: *сьома серія* (Кнтр) – контрольні тварини, які вживали звичайну воду упродовж 180-ть днів; *восьма серія* (ВМ(90)+90відн) – щури, які перорально з водою отримували суміш ВМ упродовж 90-то днів з переходом на звичайну воду на наступні 90-то днів; *дев'ята серія* (ВМ(90)+90відн(Е)) – щури, які впродовж відновного періоду (90-то днів) отримували вітамін Е після відміни 90-то денного вживання ВМ; *десята*

серія (ВМ+Е(90)+90відн(Е)) – щури, які одночасно отримували ВМ та вітамін Е упродовж 90-то днів з наступним вилученням з раціону суміші ВМ та пролонгацією лікування вітаміном Е на наступні 90-то днів.

Табл. 2.1.

Розподіл тварин відповідно до експериментального сценарію.

Часові інтервали Розподіл тварин	30-та доба	90-та доба	180-та доба
Група 1			
<i>Серія 1</i> – Кнтр	8	×	×
<i>Серія 2</i> – ВМ(30)	8	×	×
<i>Серія 3</i> – ВМ+Е(30)	8	×	×
Усього	24	×	×
Група 2			
<i>Серія 4</i> – Кнтр	×	8	×
<i>Серія 5</i> – ВМ(90)	×	8	×
<i>Серія 6</i> – ВМ+Е(90)	×	8	×
Усього	×	24	×
Група 3			
<i>Серія 7</i> – Кнтр	×	×	8
<i>Серія 8</i> – ВМ(90)+90відн	×	×	8
<i>Серія 9</i> – ВМ(90)+90відн(Е)	×	×	8
<i>Серія 10</i> – ВМ+Е(90)+90відн(Е)	×	×	8
Усього	×	×	32

2.2. Експериментальні тварини

У даному дослідженні було використано здорових статевозрілих самок щурів-альбіносів віком від 12-ти тижнів та середньою вагою $221,7 \pm 17,1$ г. Щурів відбирали після фізичного та поведінкового огляду (хода, постава, поведіння та забарвлення шерсті). Перед початком будь-яких експериментальних процедур тварини проходили адаптацію та акліматизацію упродовж семи днів в умовах віварію. Щурів утримували у вентилятованих поліпропіленових клітках по 4-и особини, у приміщенні з контрольованою температурою ($24^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$), відносною вологістю $55\% \pm 5\%$ та 12-годинним циклом день/ніч. Щури мали вільний доступ до

стандартної їжі для гризунів та води. Упродовж усього періоду експерименту (180-ть днів) щоденно проводився контроль за чистотою кліток, їжею та водою, а також за поведінкою тварин. Були прийняті всі необхідні заходи, щоб у гризуни уникали додаткового стресу.

Для дослідження було використано 80 самок щурів, які були рандомно поділені на 10-ть серій, що входили до складу 3-ох груп. Додатково, було відібрано ще по дві тварини, які повторювали умови експерименту для чистоти експерименту та коректної статистичної обробки даних у випадку передчасної загибелі щура або невідповідності фази естрального циклу. Щурів відбирали у фазі еструсу, щоб уникнути циклічних гормональних змін зумовлених мінливістю естральних фаз. Тварини підлягали евтаназії шляхом вдихання CO₂ та декапітації з наступною серединною лапаротомією для оголення матки (рис. 2.1).

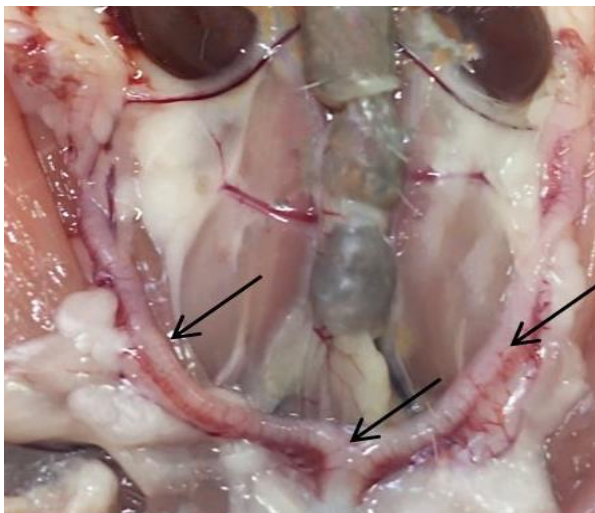


Рисунок 2.1. Матка самки щура. Макроскопічний огляд під час лапаротомії. Центральна стрілка – тіло матки; бічні стрілки – роги матки.

Потім орган видаляли та очищали від фасції та жиру. З кожного рогу матки вирізали фрагмент довжиною 1,0 см у напрямку від часткового каудального зрощення до яєчників. Рандомно, один фрагмент рогу був призначений для атомно-абсорбційної спектрометрії, а інший фіксували у формаліні для подальшого заключення у парафіновому блоці. Варто відмітити, що шийка матки не вивчалася у даному дослідженні, так як вона

володіє морфофункціональними характеристиками, що відрізняються від тіла і рогів матки та потребує окремого орієнтованого вивчення. Всього, для дослідження було отримано 160-ть рогів матки від 80-ти щурів.

Від початку та до кінця експерименту, всі поводження з тваринами та експериментальні процедури проводились відповідно до керівних принципів з догляду та використання лабораторних тварин без порушень морально-етичних норм, які повністю відповідали рекомендаціям 2.0 «Дослідження на тваринах: Звітування про експерименти *in vivo*» (ARRIVE) [137]. Окрім цього, при формуванні експериментальної моделі дотримувалися концепції 3Rs, зокрема заміна, скорочення та удосконалення [138]. Комісія з питань дотримання біоетики при проведенні експериментальних та клінічних досліджень Навчально-наукового медичного інституту Сумського державного університету погодила експериментальний дизайн (протокол при плануванні № 2/10 від 10.10.2019 р. та протокол при завершенні № 3/5 від 16.05.2023 р.) та ухвалила, що дане наукове дослідження відповідає вимогам Європейської конвенції по захисту хребетних тварин (Страсбург, 18.03.1986 р.), директиви Європейського парламенту та ради ЄС від 22.09.2010 р. та «Загальним етичним принципам експериментів на тваринах» ухваленими Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001 р.), закону України «Про лікарські засоби», 1996, ст. 7, 8, 12, керівництву ICH GCP (2008 р.), GLP (2002 р.), відповідно до вимог та типових положень з питань етики МОЗ України № 690 від 23.09.2009 р.

2.3. Цитологічне дослідження вагінального мазка

Цитологічне дослідження вагінального мазку проводилось для визначення фаз естрального циклу (проеструс, еструс, метеструс та діеструс) (рис. 2.2) щурів та їх динамічності на основі правил забору вагінального секрету [113,139]. Так, процедура неінвазивного забору мазку із статевих шляхів виконувалась в один і той же час (9.00 ранку) починаючи за 8-ім діб до обраного терміну виведенням з експерименту. Для цього, самку щура

переміщали у порожню поліпропіленову клітку на 5-ть хвилин для емоційної адаптації. Після цього, тварину фіксували шляхом утримання тулуба, а також піднімали хвіст для макроскопічної візуалізації зовнішніх статевих органів (вульви). Надалі, для отримання клітин вагінального секрету кінчик стерилізованого ватного тампону (попередньо змоченого у фізіологічному розчині) обережно вводили в вагінальний отвір на 0,5 мм під кутом 45⁰, притискали до передньої стінки піхви та прокручували. Отримані зразки послідовно наносили по 9-10 рівномірних мазків на предметні скельця SuperFrost з адгезивним покриттям (Thermo Fisher Scientific, США) і сушили при кімнатній температурі. Для світлооптичної візуалізації клітинного складу вагінального секрету використовували модифіковану процедуру забарвлення за Романовським – «Diff-Quik» (Medion Diagnostics, США) згідно протоколу виробника. Скельця фіксували метанолом (30-ть секунд), просушували (10-ть секунд), фарбували у розчині еозину Y (30-ть секунд), надалі фарбували розчином Азур II (30-ть секунд), двічі промивали у звичайній воді по 15-ть секунд та висушували на повітрі при кімнатній температурі.

Фази естрального циклу

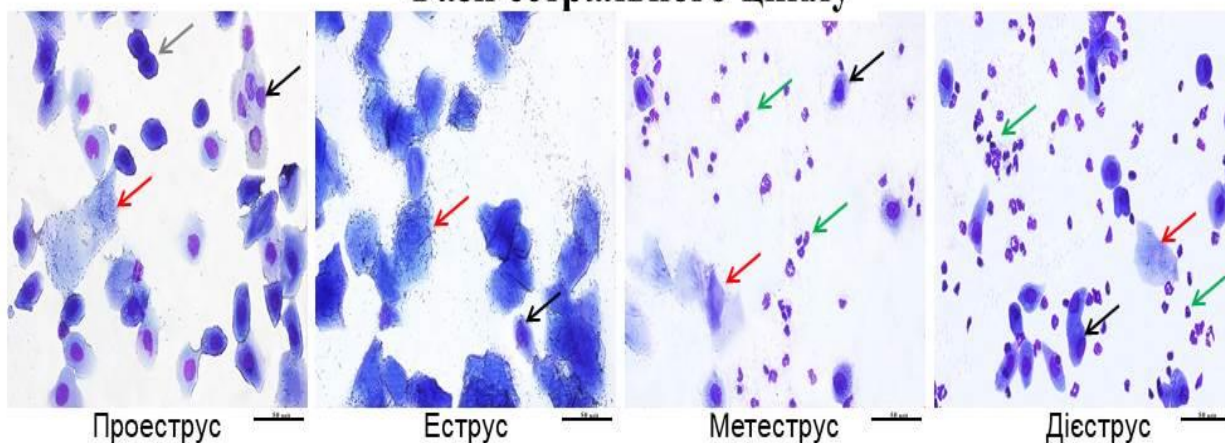


Рисунок 2.2. Цитологічні особливості вагінальних мазків щурів у різні фази (проеструс, еструс, метеструс та діеструс) естрального циклу: ядерні епітеліальні клітини (чорна стрілка), ядерні парабазальні клітини (сіра стрілка), без'ядерні ороговілі епітеліальні клітини (червона стрілка), лейкоцити (зелена стрілка). Забарвлення за методикою «Diff-Quik». Збільшення $\times 400$. Масштабна шкала – 50 мкм.

Відповідно до протоколу, цитоплазма забарвлюється у рожево-фіолетовий колір, а ядро – в темно фіолетовий. Скельця досліджували на наявність трьох основних типів клітин: ядерних епітеліальних клітин, без'ядерних ороговілих клітин та поліморфно-ядерних лейкоцитів. У залежності від переважання, присутності та/або відсутності певного типу клітин в полі зору проводили оцінку фази естрального циклу [112,113,139].

2.4. Морфологічне дослідження матки щура

Вилучені матки (80 рогів) негайно поміщали у поліацетатну касету для роботи з тканинами із наступною фіксацією у 10 % нейтральному забуференому формальдегіді впродовж 24 годин. За допомогою апарату карусельного типу «АТМ-4М» (Україна), зразки послідовно зневоднювали у ряді етилових спиртів зростаючої градації від 70 % до 96 %, просочували у ксилолі та у рідкому парафіні при температурі 56⁰С. Надалі, тканину матки поміщали у блок парафінового воску, висушували та робили зрізи 4-5 мкм завтовшки за допомогою роторного мікротома Shandon Finnesse 325 (Thermo Fisher Scientific, США). Після чого, отримані зразки переносили до водяної бані (40–42⁰С) та монтували на предметні скельця SuperFrost з адгезивним покриттям (Thermo Fisher Scientific, США), давали їм висохнути на нагрівальному столику при температурі 35⁰С упродовж однієї години та поміщали у термостатну камеру (37⁰С) на ніч. Наступного дня зразки проходили процедуру (по 10-ть хвилин) депарафінізації у ксилолах та регідратації у низхідних градаціях етилових спиртів від 96 % до 70 % з наступним очищенням у дистильованій воді.

Для вивчення морфологічної будови стінки матки, нами було проведено наступні гістологічні, імуногістохімічні та імунофлюоресцентні методики дослідження. Так, до гістологічної техніки було віднесено стандартну методику забарвлення тканини гематоксиліном та еозином [140,141]. Вищеописані техніки були проведені за допомогою розробленого та запатентованого автором автостейнеру (Патент України на корисну

модель № 144872 «Пристрій для гістологічного та гістохімічного забарвлення препаратів» від 26.10.2020 р., Бюл. № 20) [142]. Запропонована конструкція із універсальними опціями програмного забезпечення є автоматизованим професійно-орієнтованим пристроєм з високими експлуатаційними можливостями, який дає можливість одночасного забарвлення біологічних зразків розміщених на предметних скельцях за обраним сценарієм, їх рівномірної інкубації у реактивах з підібраними часовими інтервалами для кожної окремої хімічної реакції, промивання та висушування всіх тканинних зразків без задіяння людських ресурсів. Скельця поміщали у спеціальну корзину з наступним її автоматичним зануренням у скляні ємності з розчинниками та фарбуючими речовинами об'ємом по 350 мл із стандартизованими запрограмованими часовими інтервалами. Для забарвлення гематоксиліном та еозином зразки фарбувались за наступним сценарієм: дистильована вода, гематоксилін Майєра, дистильована вода, аміачна вода, дистильована вода, еозин, дистильована вода, етилові спирти зростаючої градації та карбоксилол, дистильована вода. Згодом на скельця наносили краплю синтетичного канадського бальзаму та накривали покривними скельцями (Thermo Fisher Scientific, США).

Ступінь гістопатологічних змін структурних елементів матки оцінювали на основі огляду у 8-ми рандомізованих полях зору: 0 – відсутність уражень (відштовхуючись від показників інтактних щурів); 1 – мінімальні ознаки ураження ділянки тканини (до 1–20 %); 2 – легкі ознаки ураження ділянки тканини (21–40 %); 3 – помірні ознаки ураження ділянки тканини (40–70 %); 4 – важкі ознаки ураження ділянки тканини (> 70 %).

2.5. Імуногістохімічне та імунофлюоресцентне дослідження

Відповідно до вищеописаного розділу, одразу після депарафінізації, зневоднення та промивання у дистильованій воді, виконували імуногістохімічне дослідження тканини матки відповідно до протоколу системи детекції «UltraVision Quanto Detection System HRP Polymer» (Thermo

Fisher Scientific, США), яка включала процес демаскування антигенів у цитратному буфері при рН 6,0 за температури 97⁰С у водяній бані «ВБ-4» (Україна) упродовж 30-ти хвилин; блокування властивостей ендогенної пероксидази з використанням 3 % «Hydrogen Peroxide Block» упродовж 10 хвилин; блокування неспецифічного зв'язування білків за допомогою «Ultra V Block» упродовж 5-ти хвилин; відібраної панелі специфічних первинних антитіл разом з «Primary Antibody Amplifier Quanto» упродовж 60 хвилин; посилення реакції за допомогою вторинних антитіл «HRP Polymer Quanto» упродовж 10-ти хвилин; «DAB Chromogen» (діамінобензидин) упродовж 5-ти хвилин для фотоокислення пероксидази з дозбарвленням ядер гематоксилином Майєра (3-и хвилини); наносили краплю синтетичного канадського бальзаму з наступним заключенням препаратів покривними скельцями. Між етапами скельця промивали у фосфатному буфері при рН 7,4 упродовж 20-ти хвилин. Для вивчення імуногістохімічної реакції було підібрано універсальну панель первинних антитіл представлену у табл. 2.2.

Таблиця 2.2.

Перелік первинних антитіл використаних для дослідження

№ п/п	Назва первинних антитіл	Клон	Імунізована тварина	Розведення	Особливості локалізації експресії
1.	Estrogen receptors (EP)**	E115	Кріль	1:200	Ядро
2.	Progesterone receptors (ПР)*	SP2	Кріль	1:400	Ядро
3.	Heat Shock Protein 90α* (Hsp90α)	Поліклон	Кріль	1:200	Ядро/ Цитоплазма
4.	Superoxidedismutase 1 (СОД1)**	Поліклон	Кріль	1:500	Цитоплазма
5.	Carcinoembryonic-antigen-related cell-adhesion molecules (МКА-РЕА1)***	11-1Н	Миша	1:400	Мембрана

Примітка: виробник антитіл * – Thermo Fisher Scientific; ** – Abcam;

*** – надано Б. Б. Зінгером (Німеччина).

Для імунофлюоресцентного дослідження, зразки після демаскування піддавалися блокуванню неспецифічного фонового забарвлення 1 % бичачим сироватковим альбуміном у натрій-фосфатному буфері упродовж 1-ї години. Надалі, на скельця наносили первинні антитіла МКА-PEA1 для 12-годинної інкубації при температурі 4°C та наступною кон'югацією вторинними антитілами упродовж 1-ї години. Наступним кроком стало нанесення Су3 Стрептавідину та DAPI у розведенні 1:200 тривалістю 30-ти хвилин. На завершальному етапі монтували за допомогою «Fluoromount-G» (Австрія) і поміщали у холодильник на одну годину.

Показники експресії оцінювали в клітинах просвітнього та залозистого епітелію, строми ендометрію та гладком'язових клітини міометрію. Для визначення цифрових показників експресії рецепторів досліджуваних білків використовували кількісний (підрахунок імунопозитивних клітин) та напівкількісний аналіз. Експресію ER та PR оцінювали за сумарними показниками подвійної шкали на основі інтенсивності (негативна реакція – 0 балів; слабовиражена реакція – 1 бал; помірновиражена реакція – 2 бали; сильновиражена реакція – 3 бали) та відсотку експресованих клітин до усіх клітин (0 % – негативна реакція; 1 % – 1 бал; >1 % - 10 % – 2 бали; >10 % - 33 % – 3 бали; >33 % - 66 % – 4 бали; >66 % – 5 балів). Сумарну кількість балів отримували шляхом додавання отриманих двох показників: «-» – 0-2 бали (негативна реакція); «+» – <3-4 бали (слабопозитивна реакція); «++» – <5-6 бали (помірнопозитивна реакція); «+++» – <7-8 балів (сильнопозитивна реакція). Для оцінювання гетерогенності білків Hsp90 α , СОД1 та МКА-PEA1 використовували наступну шкалу: 0-2 бали – негативна реакція; <3-4 бали – слабопозитивна реакція; <5-6 балів – помірнопозитивна реакція; <7-8 балів – сильнопозитивна реакція. За умов експресії більше ніж 1 % клітин у 6 відокремлених полях при оптичному збільшенні $\times 400$ імуногістохімічну реакцію вважали позитивною. Для контролю якості дослідження проводили активний (матеріал з позитивною та негативною реакцією) та пасивний (без первинних антитіл) контроль.

2.6. Морфометричний та мікроскопічний аналіз

Клітинний склад вагінальних мазків, аналіз морфологічних та імуногістохімічних препаратів досліджували за допомогою світлового мікроскопа «Carl Zeiss Primo Star» (Німеччина), який обладнаний об'єктивами збільшення $\times 40$, $\times 100$, $\times 200$ та $\times 400$ з цифровою камерою «Zeiss AxioCam ERc 5s» (Німеччина) і програмною платформою для виведення зображення «ZEN 2 (blue edition)» (Німеччина). Морфометричні дослідження проводились в програмному середовищі «ZEN 2 (blue edition)» з вбудованими цифровим мікрометром та обчислювальними функціями. Імунофлуоресцентні препарати аналізували за допомогою мікроскопа «Leica DMI4000B» (Німеччина), де сигнал від Стрептавідину був червоного кольору, а сигнал від DAPI – блакитного. Усі виміри складових елементів стінки матки здійснювалися у 6 незалежних полях зору при оптичному збільшенні $\times 200$.

2.7. Атомно-абсорбційний спектрофотометричний аналіз

Атомно-абсорбційне спектрометричне дослідження заморожених зразків матки (80 рогів) проводили на базі кафедри морфології Навчально-наукового медичного інституту Сумського державного університету згідно протоколу [30]. Біоматеріал зважували на аналітичних вагах, висушували (при $105\text{ }^{\circ}\text{C}$), поміщали у порцелянову посуду та спалювали в печі при температурі 450°C . Золю розчиняли в соляній (2 мл) та азотній (1 мл) кислотах при 50°C . Надалі, до зразків добавляли дистильовану воду до досягнення 10 мл. Субстрат випарювали за допомогою полум'яного розпилювача у комплексі КАС-120.1 (Україна). Після цього, зразки вивчали на електротермічному атомно-абсорбційному спектрофотометрі С-115М1 (Україна) з аналітичним програмним забезпеченням «AAS SPEKTR» (Україна) для встановлення оптичної щільності та кількості ВМ за довжиною хвилі характерною для кожного окремого хімічного елементу: цинк

(213,9 нм), мідь (324,7 нм) , залізо (248,3 нм), марганець (279,4 нм), свинець (283,3 нм) і хром (357,9 нм).

2.8. Статистичний аналіз

Усі цифрові результати виражені в абсолютних показниках як середнє значення (M) \pm стандартне відхилення (SD) для кожної вибірки та відносних – відсоток (%) різниці між вибірками. Для перевірки гіпотези про нормальність розподілу користувались статистичним критерієм Шапіро-Вілка. Достовірність різниці між групами для нормально розподілених змінних визначали незалежним параметричним t -критерієм (критерій Стьюдента) та однофакторним дисперсійним аналізом ANOVA з поправкою за Бонферроні, щоб порівняти пару змінних між групами, відповідно. Кореляцію між показниками оцінювали за допомогою коефіцієнта кореляції Спірмена (r). Всі розрахунки та графіки були зроблені за допомогою програмного пакету статистики GraphPad Prism® (версія 9.2) на базі операційної системи Windows 10. Різниця значень між порівнювальними показниками вважалась достовірною при $p < 0,05$.

РОЗДІЛ 3

РЕЗУЛЬТАТИ ВЛАСНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

3.1. Патоморфологічні зміни матки щурів за умов впливу ВМ.

Для коректного морфологічного аналізу будови стінки матки самок щурів Кнтр серій першочергово було проведено макроскопічний аналіз органа (рис. 3.1). Нами було візуалізовано шийку та тіло органа, які формуються за рахунок часткового зрощення двох окремих симетричних маткових рогів (каудально). При цьому, одна шийка та одне тіло матки розділені тонкою перегородкою, яка розділяє їх на два окремі просвіти. Дана перегородка бере початок від ділянки зрощення маткових рогів та закінчується у дистальній частині шийки при переході у порожнину піхви. У свою чергу, роги органа з'єднуються з яєчниками за допомогою коротких маткових труб у краніальному напрямку. Зовні орган має світло-рожеве забарвлення з дещо блискучою поверхнею.

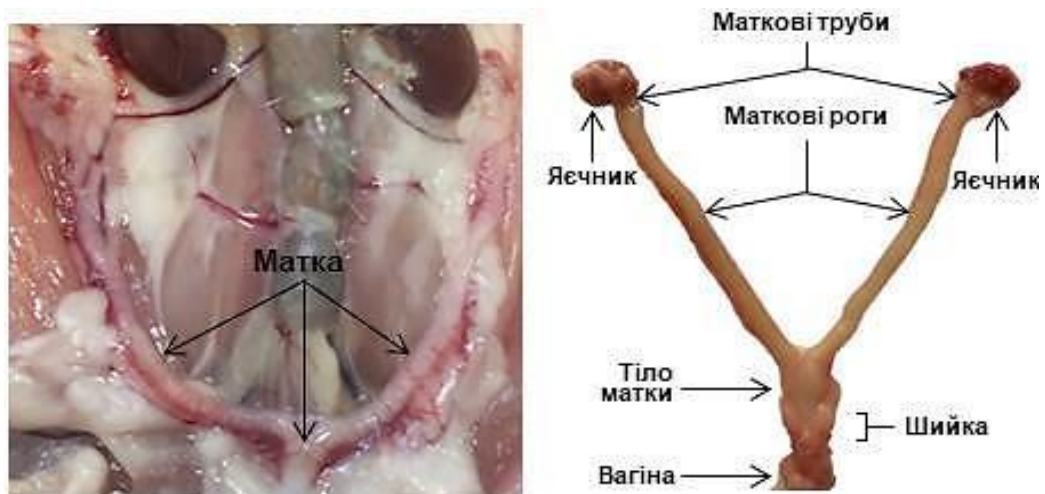


Рис. 3.1. Макроскопічне зображення будови матки самки щура Кнтр серії. Оригінальний вигляд.

При гістологічному дослідженні рогів та тіла матки щура в аксіальній площині чітко візуалізується диференціація на слизову, м'язову та серозну оболонки, які володіють характерними морфологічними особливостями будови (рис. 3.2). Просвіт матки має щілиноподібний вигляд.

Внутрішня оболонка (ендометрій) матки складається з одношарового стовпчастого епітелію та власної пластинки (рис. 3.2). Епітеліоцити формують один суцільний ряд клітин, які повністю вистилають матку з середини та направлені апікальною частиною у просвіт органа, а базальною – до базальної пластинки. Епітеліальний пласт представлений двома видами клітин – секреторними та війчастими, які щільно контактують між собою. Морфологічно екзокриноцити відрізняються від війчастих клітин меншою висотою, світлішою цитоплазмою та наявністю вакуолей. Ядра епітеліоцитів овальної та/або округлої форми, розташовуються ближче до базальної мембрани. При світлооптичному дослідженні ядереця легко ідентифікуються. Покривні епітеліоцити розташовуються на гомогенній базальній пластинці, яка є частиною епітеліального пласту, забезпечує його правильну орієнтацію та чітко повторює контури епітеліоцитів у місці їх з'єднання.

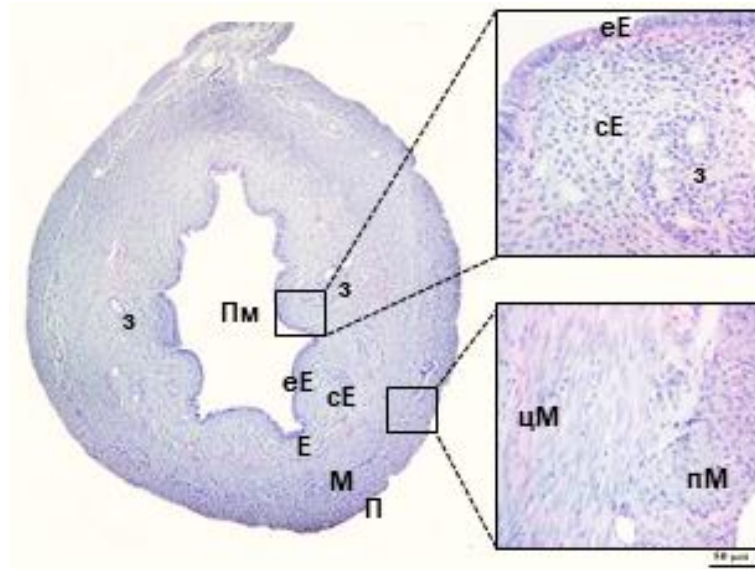


Рис. 3.2. Поперечний зріз стінки рога матки щура Кнтр серії. Позначення: Пм – просвіт матки; Е – ендометрій; М – міометрій; П – периметрій; еЕ – епітелій ендометрію; сЕ – строма ендометрію; з – маткові залози; цМ – циркулярний м'язовий шар; пМ – поздовжній м'язовий шар. Забарвлення гематоксилін-еозином. Збільшення: $\times 40$ та $\times 400$. Масштабна шкала – 50 мкм.

Субепітеліально розташовується строма ендометрія, яка представлена добре розвиненою пухкою сполучною тканиною з фібробластами різного ступеню зрілості та міжклітинною речовиною з розвиненою системою мікроциркуляторного русла, поодинокими та/або згрупованими трубчастими залозами та поодинокі розкиданими імунними клітинами (лімфоцити та макрофаги) (рис. 3.3). У більш зрілих щурів поодинокі зустрічаються клітини з гемосидерином. Маткові залози розташовуються на різній глибині ендометріальної строми, пронизують її та відкриваються у просвіт матки. Залози у рогах матки групуються та розташовуються щільно по відношенню одна до одної, у той час, як залози тіла та шийки розміщуються поодинокі. За рахунок своєї звивистої будови, на розрізі, залози мають різну форму (від овальної до округлої) та розмір. У залозах секреторний тип клітин переважає над війчастим. У залозах спостерігається чітка полярність ядер клітин. Висота glanduloцитів нижча ніж у люмінальних клітин, а їх ядра переважно округлої форми. Разом, паренхіматозний та стромальний компоненти ендометрію здатні формувати складки різної товщини та форми (рис. 3.3). При цьому, стромальному компоненту внутрішньої оболонки не притаманна стабільність її товщини, а її розміри значно варіюють. Судини кровоносного та лімфатичного русла пронизують строму ендометрія та досягають епітелію, однак не проникають через базальну мембрану. Діаметр судин коливається, що обумовлено їх спіральною формою будови.

Матка щурів, а особливо ендометрій, може зазнавати певних фізіологічних трансформацій залежно від фази естрального циклу. Відповідно до попередньо встановленої нами фази, завдяки результатам цитологічного дослідження, морфологічно було відмічено, що у фазі проеструсу відбувається проліферація і збільшення висоти поверхневого та залозистого епітелію слизової оболонки з кубовидного до циліндричного, зростає кількість судин, візуалізуються поодинокі мітози та вогнищева дегенерація ендометріального епітелію, а також можливі локальна запальна інфільтрація та незначний набряк строми. У фазі еструсу паренхіматозно-

стромальний компоненти слизової оболонки потовщуються, епітелій призматичний (високий), залози секретують, поодинокі візуалізуються клітини з дистрофічними змінами, знижується (або відсутній) рівень мітотичної активності та змішаноклітинної (переважно лімфоцитарної) запальної інфільтрації. Початок метеструсу характеризується зростанням мітотичного поділу епітеліоцитів, поступовим зниженням їх висоти та явищами вакуольної дистрофії, а також вогнищевою інфільтрацією строми імунокомпетентними клітинами. Упродовж дієструсу епітеліальний компонент ендометрію представлений низьким призматичним епітелієм (подекуди кубовидної форми) інколи з дегенеративними та запальними явищами, залози неактивні, вогнищево помітний незначний набряк строми. Беручи до уваги стабільність морфологічної будови матки та її готовність до запліднення саме упродовж фази еструсу, нами було вирішено вивчати орган в цей період естрального циклу.

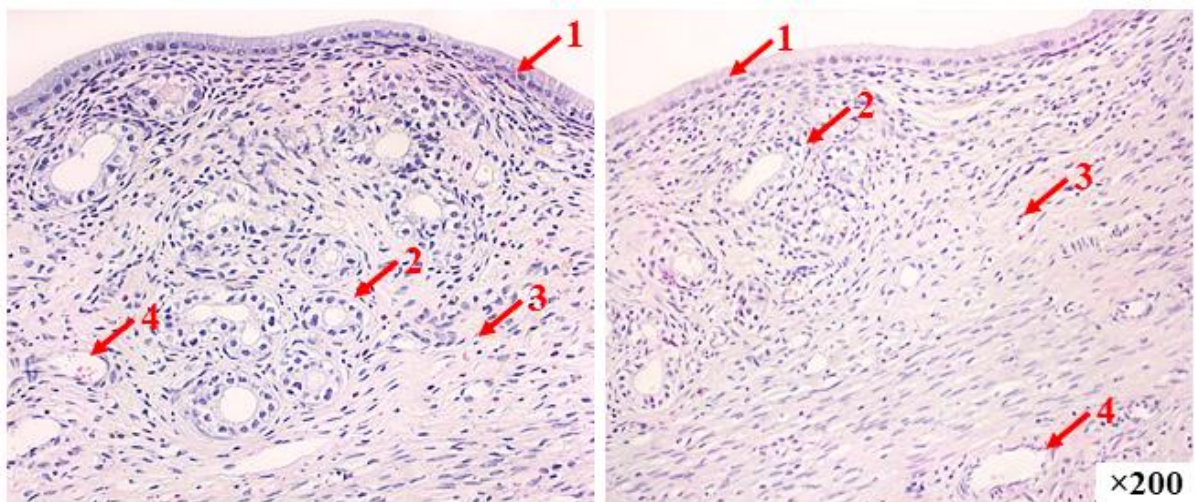


Рис. 3.3. Стінка матки самки щура Кнтр серії. Позначення: 1 – епітелій ендометрію; 2 – залози ендометрію; 3 – строма ендометрію; 4 – судина. Забарвлення гематоксилін-еозином. Збільшення $\times 200$.

У м'язовій оболонці (міометрій) чітко диференціюються два шари міоцитів: циркулярно (субмукозно) та поздовжньо (субсерозно) розташовані гладкі м'язові волокна (рис. 3.4). У аксіальній площині, субмукозні міоцити веретеноподібної форми зі видовжено-овальними ядрами центрального

розташування та світлою цитоплазмою, у той час як субсерозні міоцити мають округлу форму. Чітко ідентифікуються ядра клітин. Гладкі міоцити формують односпрямовані волокна різного розміру, завдяки міжклітинним контактам та сітці сполучнотканинних волокон. Шари міометрію з'єднані між собою, а поміж ними вогнищево розташовується пухка волокниста сполучна тканина, яку пронизують численні кровоносні та лімфатичні судини різного діаметру. Зазвичай кровоносні судини найяскравіше виражені у субсерозному шарі міометрію.

Серозна оболонка (периметрій) формує зовнішній каркас органа, який покритий одношаровим плоским епітелієм. Даній оболонці притаманна стабільність будови та параметрів.

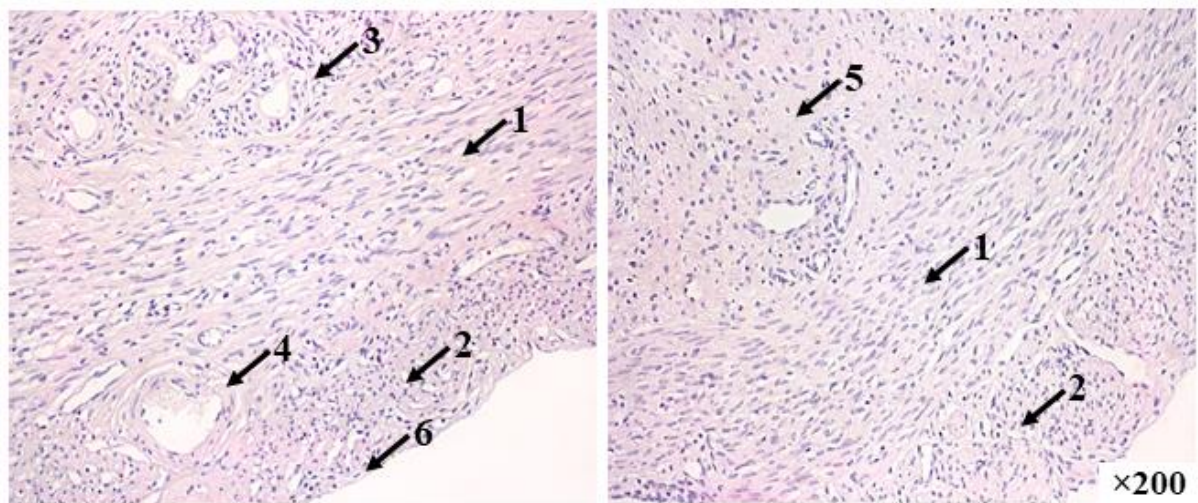


Рис. 3.4. Стінка матки самки щура Кнтр серії. Позначення: 1 – циркулярний шар міометрію; 2 – поздовжній шар міометрію; 3 – залози ендометрію; 4 – судина; 5 – строма ендметрію; 6 – периметрій. Забарвлення гематоксилін-еозином. Збільшення $\times 200$.

При мікроскопічному дослідженні органа у фронтальній площині ідентифікується перегородка, яка розділяє маткове тіло та шийку на два окремі просвіти. Вона представлена паренхіматозним та стромальним компонентами, що морфологічно відповідають слизовій та м'язовій оболонкам (рис. 3.5). Дорзально, маткове тіло з перегородкою відкривається у шийку матки. У місці переходу шийки з маткової (надпівкової) частини

(ендоцервікс) у вагінальну частину (екзоцервікс), призматичний епітелій змінюється на багат шаровий плоский незроговілий епітелій. Власна пластинка шийки матки самки щура володіє більш щільною строю та значно поступається своєю товщиною тілу та рогам органа. В той же час, при переході з тіла в шийку ідентифікується переважання м'язового компоненту над ендометріальним. Враховуючи, що шийка матки володіє індивідуальними характеристиками будови та функцій, на відміну від тіла та рогів органа, було вирішено не вивчати її реакцію на дію ВМ.

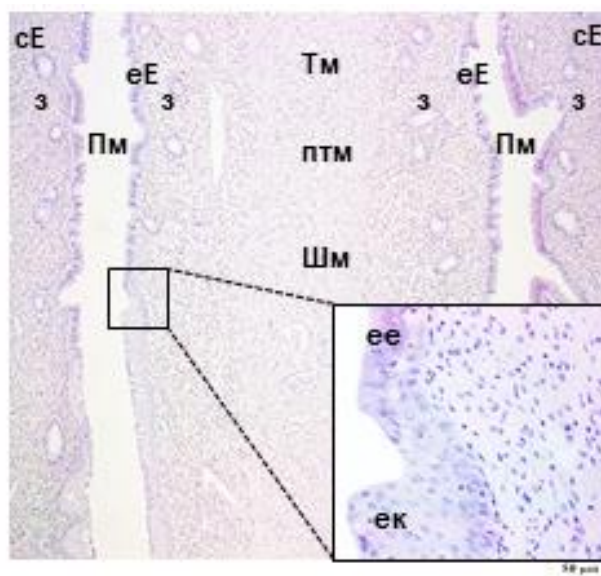


Рис. 3.5. Вертикальний фронтальний зріз стінки тіла матки щура Кнтр серії. Позначення: Пм – просвіт матки; Тм – тіло матки; птм – перегородка тіла матки; Шм – шийка матки; еЕ – епітелій ендометрію; сЕ – строма ендометрію; з – маткові залози; еЕ – ендцервікс шийки матки; ек – екзоцервікс шийки матки. Забарвлення гематоксилін-еозином. Збільшення: $\times 40$ та $\times 400$. Масштабна шкала – 50 мкм.

На противагу морфологічному стану матки Кнтр серії щурів, стінка відповідного органа експериментальних тварин зазнавала виражених патоморфологічних трансформацій, інтенсивність яких залежала від тривалості дослідження та дизайну впливу ВМ на організм.

При світлооптичному дослідженні, на 30-ту добу вживання суміші ВМ тваринами серії ВМ(30) спостерігались виразні (4 бали – важкі ознаки

ураження тканини) зміни гіперпластичного і гіпертрофічного характеру у ендометрії та міометрії (рис. 3.6).

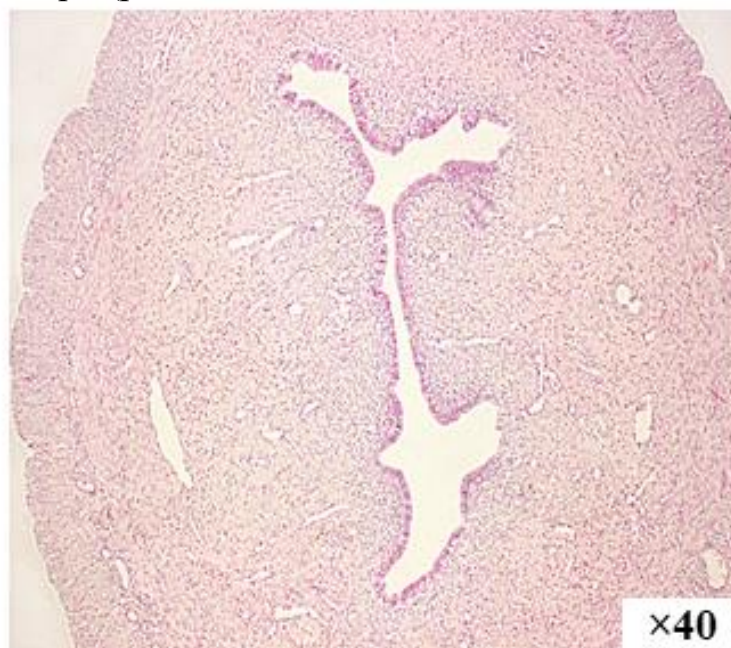


Рис. 3.6. Стінка матки самки щура VM(30) серії. Забарвлення гематоксилін-еозином. Збільшення $\times 40$.

Увагу привертало значне нерівномірне потовщення стінки органа (переважно за рахунок слизової оболонки), а також звуження та деформація просвіту матки. Відбулось збільшення висоти та форми люмінального епітелію. Клітини епітеліального пласту набули більш витягнутої форми. Їх стратифікація порушувалась за рахунок порушення впорядкованості та багаторядності. В ядрах епітеліоцитів спостерігалась підвищена акумуляція хроматину на тлі нерівномірно зафарбованої цитоплазми та екзотропії мембрани. Значно зросла їх мітотична активність, ядерна атипія не визначалась. При цьому, ядра зберігали свою форму, розташовувались як на периферії клітин (базальне розташування), так і частково втрачали свою полярність. Значна кількість епітеліоцитів слизової оболонки зазнавали дистрофічних (паренхіматозних) змін. У цитоплазмі переважаючої більшості вражених поверхневих та залозистих клітин відмічалась наявність вакуолей (вакуольна дистрофія) та поодинокі дрібні ацидофільними гранул (ознаки зернистої дистрофії). Інколи ідентифікувались клітини, у яких ядра повністю

заміщенні вакуолями. Місцями присутні явища апоптозу клітин у вигляді зменшення розмірів ядра, порушення його контурованості та внутрішньоядерної маргінації хроматину. Не рідко спостерігались вогнища десквамації поверхневого епітелію з ділянками оголення базальної мембрани. Поверхня просвіту матки мала неправильну форму за рахунок псевдополіповидних випинань та формування паренхіматозно-стромальних складок.

Значно зросла кількість залозистого компоненту, розташованого серед цитогенної строми ендометрію. Залозистий епітелій (від одношарового низького кубовидного до одношарового високого стовпчастого) мав менш виражений характер морфологічних порушень дистрофічного характеру порівняно з поверхневим епітелієм (рис. 3.7).

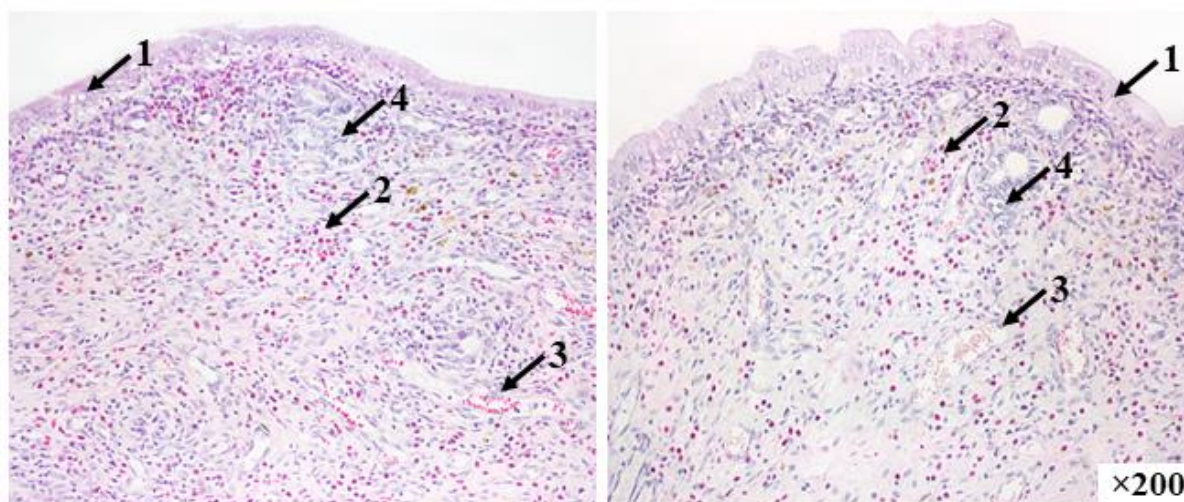


Рис. 3.7. Ендометрій самки щура VM(30) серії. Позначення: 1 – гірепластичні зміни епітеліального пласту; 2 – варажена запальна інфальтрація; 3 – циркуляторні порушення; 4 – патологічне формування залоз. Забарвлення гематоксилін-еозином. Збільшення $\times 200$.

Залози розташовувались хаотично та були розділені збільшеною кількістю та клітинністю ендометріальної строми. Серед дифузного збільшення кількості ендометріальних залоз, помітні розширені або неправильні залози з інвагінаціями, які вистелені одним шаром гіперхромних епітеліоцитів з круглими або овальними ядрами з порушеною полярністю.

Інша ж частина залоз характеризувалась відсутністю просвіту у вигляді їх «склеювання». При цьому, висота епітелію залежала від форми та розміру залоз. Вогнищево у просвіті залоз містилась невелика кількість слизу. Місцями помітні депозити гемосидерину у вигляді зерен золотисто-жовтого або золотисто-коричневого кольору. Строма ендометрія та стінки судин іноді мали ознаки від мінімального до помірного набряку зі збільшенням змішаноклітинних інфільтратів запальних клітин. Важливо відмітити, що запальна інфільтрація була представлена переважно вираженою тканинною еозинофілією як в ендометрії, так і в міометрії.

М'язова оболонка виглядала значно потовщеною за рахунок помірно гіпертрофованих міоцитів (рис. 3.8). Збільшення кількості добре диференційованих гладком'язових клітин не спотворювало формування у пучки, хоча і вогнищево візуалізувалась їх дезорганзація. Ядра окремих міоцитів важко ідентифікувались. Мітотичні фігури практично відсутні. Увагу привертало переважання товщини циркулярного шару над поздовжнім.

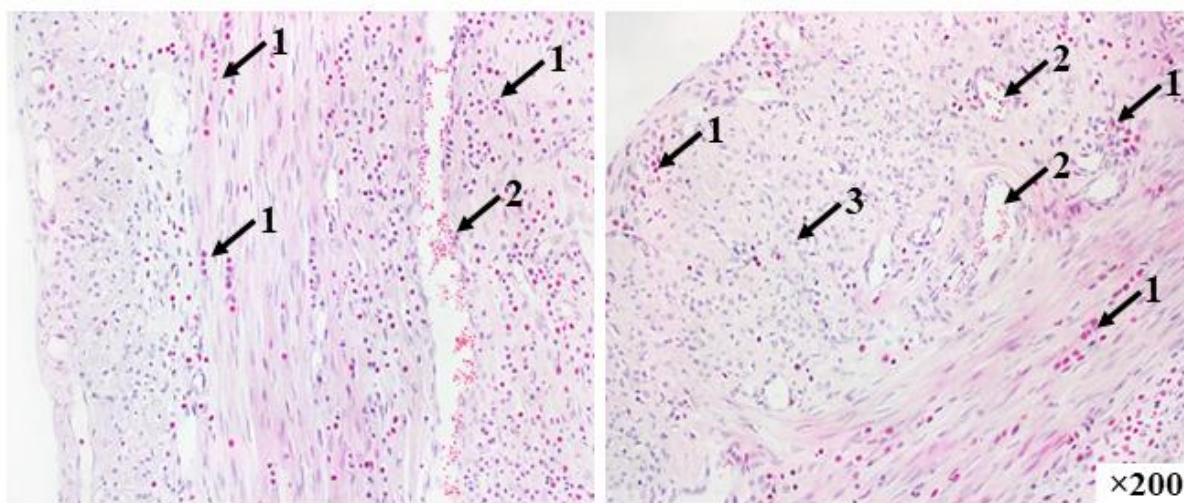


Рис. 3.8. Міометрій самки щура VM(30) серії. Позначення: 1 – варажена запальна інфальтрація; 2 – циркуляторні порушення; 3 – гіпертрофічні зміни. Забарвлення гематоксилін-еозином. Збільшення $\times 200$.

При цьому, дистрофічні зміни значно частіше спостерігались саме у клітинах поздовжніх волокон. Їх ядра виражені не чітко, а цитоплазма слабо забарвлена. Розміри міоцитів варіювали між собою, однак їх направлення не

порушувалось. Серед гладком'язових клітин та навколо судин часто помітна помірно виражена запальна інфільтрація. Важливо те, що більша кількість еозинофілів вражала саме субмукозний шар міометрію на противагу субсерозному. Межа між ендометрієм та міометрієм чітко ідентифікувалась, дещо гіршою була візуалізація переходу м'язової оболонки в серозну. При цьому, у периметрії спостерігались лише явища мінімального набряку та дистрофії одиничних клітин.

Просвіт судин великого калібру в міометрії зазвичай був спустошений та розширений. У свою чергу, судини, які локалізувались у ендометріальній стромі та були меншого розміру, характеризувались ознаками повнокрів'я та стазу. Стінка окремих судин була спазмованою, потовщеною та дещо набряклою. Навколо артеріальних та венозних судин спостерігалась незначна запальна еозино-лімфоцитарна інфільтрація (рис. 3.7).

На противагу цьому, щоденне додавання вітаміну Е до раціону тварин серії ВМ+Е(30) мало певний позитивний ефект (3-4 бали – помірно-важкі ознаки ураження тканини) на морфологію стінки матки (рис. 3.9). Це відображалось на зменшенні глибини та інтенсивності порушення архітектоніки структурних елементів органа. Так, помірно виражені морфологічні зміни були представлені гетерогенністю дистрофічних, запальних та циркуляторних змін в ендометрії та міометрії.

У ендометрії відбувалось збільшення проліферації та об'єму паренхіматозно-стромальних компонентів з переважанням останнього (рис. 3.10). Вогнищево псевдостратифікований покривний епітелій був гіпертрофований з багаторядно розташованими ядрами та з порушенням контурів клітин. Однак змінені епітеліоцити значно частіше чергувалися з нормальним високим циліндричним епітелієм, а їх апікальна поверхня була чітко окреслена. Висота призматичного епітелію залоз була більш стабільною порівняно з серією без вітаміну Е.

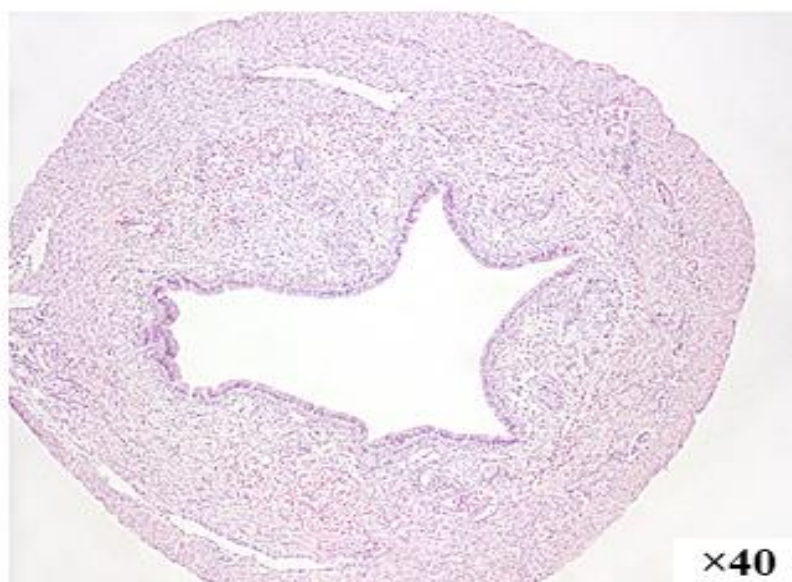


Рис. 3.9. Стінка матки самки щура VM+E(30) серії. Забарвлення гематоксилін-еозином. Збільшення $\times 40$.

Наряду з цим, серед призматичного (покривного та залозистого) ендометрію зустрічалися паренхіматозні клітини збільшенні в об'ємі, світлою прозорою цитоплазмою та зміщеним на периферію ядром з депозицією вакуолей заповнених цитоплазматичною рідиною та у стані апоптозу. Ядра паренхіми незмінених ендометріальних клітин овальні та/або дещо витягнуті і збагачені хроматином (інколи пікнотичні), а їх цитоплазма базофільна. Ознаки десквамації люмінальних епітеліоцитів рогів, тіла та маткової частини шийки ідентифікувались вогнищево. Виразно змінений рельєф ендометрію характеризувався ділянками гіперплазії та розгладження, що призвело до помірно вираженої деформації внутрішньоматкового просвіту. Товщина ендометрію збільшена за рахунок розростання і активної проліферації залозистих та стромальних елементів (рис. 3.10). Часто зустрічаються фігури мітозу. На тлі збільшення хаотично розкиданих фібробластів та мінімального набряку строми власної пластинки слизової оболонки всього органу, зросла також і кількість залоз із варіабельністю їх розмірів та форми. Так, просвіт маткових залоз змінювався від звуженого (включаючи повністю відсутній) до розширеного (кістозно зміненого). Зазвичай, вони мали згрупований тип розташування, хоча зустрічались і

одинокі розкидані залози. На тлі цих змін мали місце і залозисті структури без виражених трансформацій. У просвіті окремих ендометріальних залоз помітна невелика кількість слизу, що вказувало на їх активність.

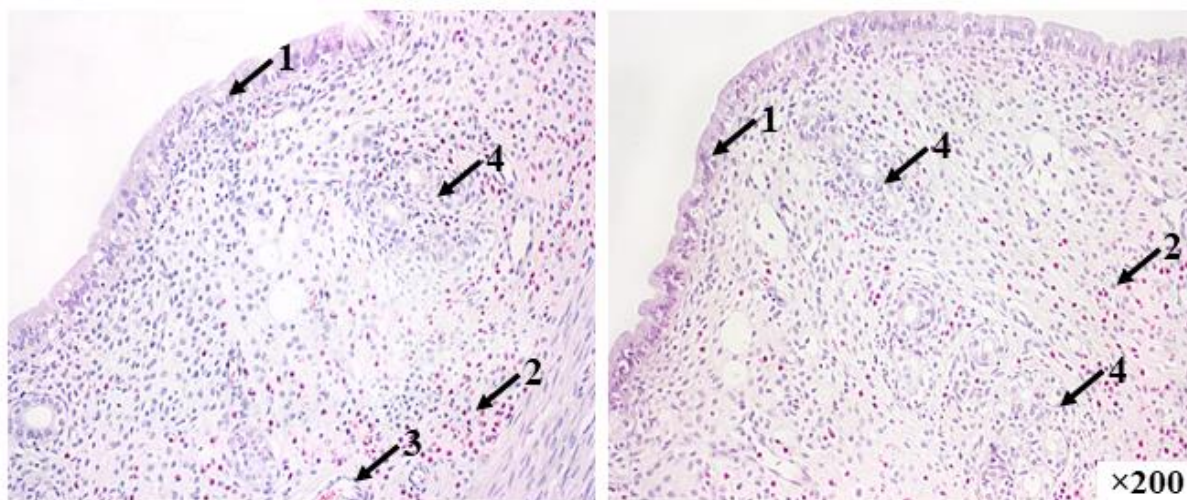


Рис. 3.10. Ендометрій самки щура VM+E(30) серії. Позначення: 1 – гірепластичні зміни епітеліального пласту; 2 – запальна інфальтрація; 3 – циркуляторні порушення; 4 – патологічне формування залоз. Забарвлення гематоксилін-еозином. Збільшення $\times 200$.

Чітко прослідковувався перехід від ендометрію до міометрію, а також поділ останнього на шари. Не зважаючи на це, м'язова оболонка матки була доволі потовщеною. При цьому, виразність товщини м'язових волокон переважала над виразністю слизової оболонки. Гладкі міоцити переважно були гіпертрофічно змінені, однак рідко порушували направленість волокон. Поодинокі міоцити були деструктуризовані та неоднорідні, з ознаками набряку м'язової та міжм'язової сполучної тканини. Доволі часто зустрічались м'язові клітини вражені вакуольною дистрофією (рис. 3.11).

Осередки змішано-клітинної запальної інфільтрації еозинофільно-лімфоцитарного характеру розповсюджувались як в стромі ендометрію, так і серед волокон міометрію, а також периваскулярно. Значне переважання клітин запалення виявлялось саме у власній пластинці ендометрію. Дисциркуляторні ж розлади були представлені у вигляді незнаного

периваскулярного набряку, розширення та спазму окремих судин, що супроводжувалось явищами застою та стазу.

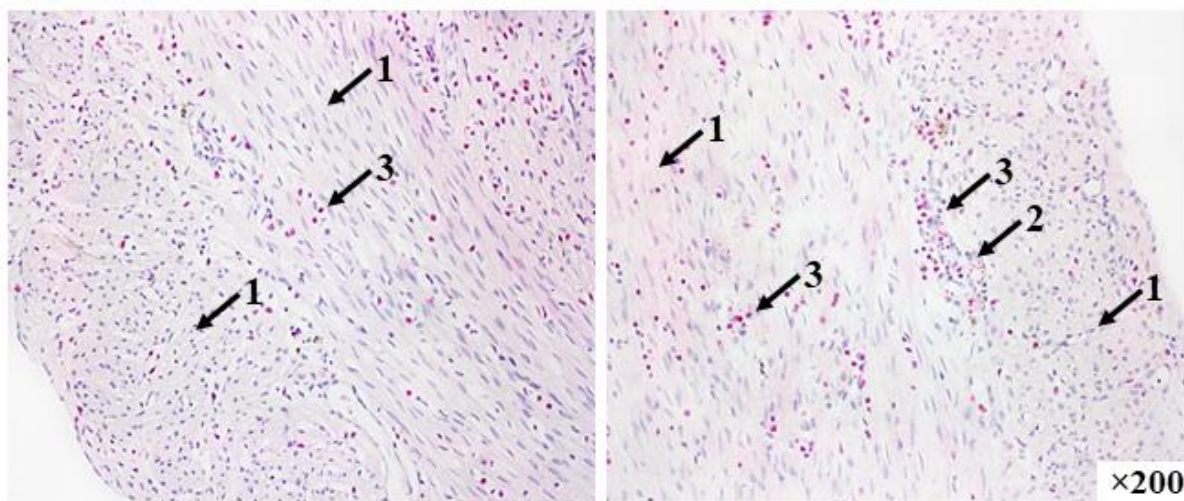


Рис. 3.11. Міометрій самки щура VM+E(30) серії. Позначення: 1 – гіпертрофічні зміни міометрію; 2 – циркуляторні порушення; 3 – запальна інфільтрація. Забарвлення гематоксилін-еозином. Збільшення $\times 200$.

З іншого ж боку, пролонгація вживання суміші VM у надлишкових концентраціях до 90-го днів мала ряд неспецифічних мікроскопічних особливостей матки щурів, у порівнянні з тваринами відповідної Кнтр серії. Морфологічно, у тварин серії VM(90) 2 групи було виявлено розвиток сильновиражених (4 бали – важкі ознаки ураження тканини) патоморфологічних змін у матки. Однак, варто відмітити наростання протилежно направлених атрофічних порушень в органі відносно матки щурів групи 1 (30-ть днів).

Детальний аналіз структурних елементів матки вказав на багатогранність дистрофічно-атрофічних змін переважно у ендометрії, та міометрії (рис. 3.12). Так, люмінальний та залозистий індіферентний епітелій ендометрію з однорядно розташованими ядрами характеризувався різким зменшенням та нерівномірністю його висоти та розміру (високий циліндричний епітелій змінив свою форму на кубовидну та інколи сплюснуту). Спостерігалось зниження мітотичної активності у епітеліальних та стромальних клітинах. Ділянки епітеліального пласту з нормальною

висотою клітин майже не зустрічались. Ідентифікувались дистрофічні зміни низького призматичного епітелію (вакуольна дегенерація) та екзокриноцитів (кістозна дегенерація келихоподібних клітин), зустрічаються явища апоптозу та каріопікнозу. Ядра низького стовпчастого епітелію менш впорядковані і розташовані хаотично з переважанням їх локалізації у центрі цитоплазми, за рахунок зменшення її об'єму та зміни ядерно-цитоплазматичного співвідношення. Цитоплазма просвітлена, а в ядрах спостерігається нерівномірне згущення хроматину. Навколо окремих ядер візуалізуються порожнини, які відділяють цитоплазму. Деякі клітини мали сплюснену форму, а їх ядра набували горизонтально видовженої форми. Поверхня покривного епітелію була зазвичай гладка та не формувала складок.

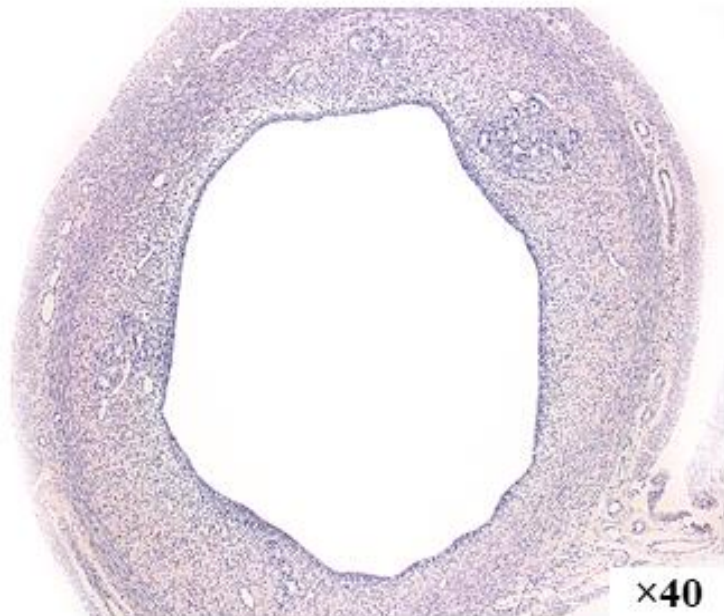


Рис. 3.12. Стінка матки самки щура ВМ(90) серії. Забарвлення гематоксилін-еозином. Збільшення $\times 40$.

Строма ендометрію мала ущільнений вигляд за рахунок збільшення клітинності, дезорганізації та збільшення сполучної тканини та невираженою проліферації щільно розміщених стромальних клітин з округлими гіперхромними ядрами (рис. 3.13). Стромальний компонент власної пластинки значно переважав над залозистим. Часто спостерігалось відкладання гемосидерину неподалік від судин. Так, зменшилась чисельність

та осередки ендометріальних залоз розташованих у стромі слизової оболонки. Окрім цього, зменшились їх розміри та діаметр просвіту. Навколо нерівномірно розкиданих залоз відмічався перигландулярний фіброз та незначний набряк, а поодинокі залози знаходились у стані кістозної трансформації. Описані зміни зустрічались як у глибоко, так і поверхнево розташованих залозах.

У товщі стромі ендометрію та навколо судин спостерігались вогнища скупчень клітин запального інфільтрату. При цьому, переважна більшість клітин у запального змішаноклітинного мікрооточення була представлена лімфоцитами та поодинокими еозинофілами (на відміну вираженої еозинофілії на 30-ту добу дослідження).

Вищеописані атрофічні зміни ендометрію знайшли своє відображення у трансформації форми та збільшення розмірів внутрішньоматкового просвіту за рахунок редукції товщини слизової оболонки, зменшення кількості складок, їх виразності та висоти. Представлений дисбаланс тинкторіальних властивостей епітеліально-залозистого компоненту матки не супроводжувався порушенням цілісності слизової оболонки (рис. 3.13).

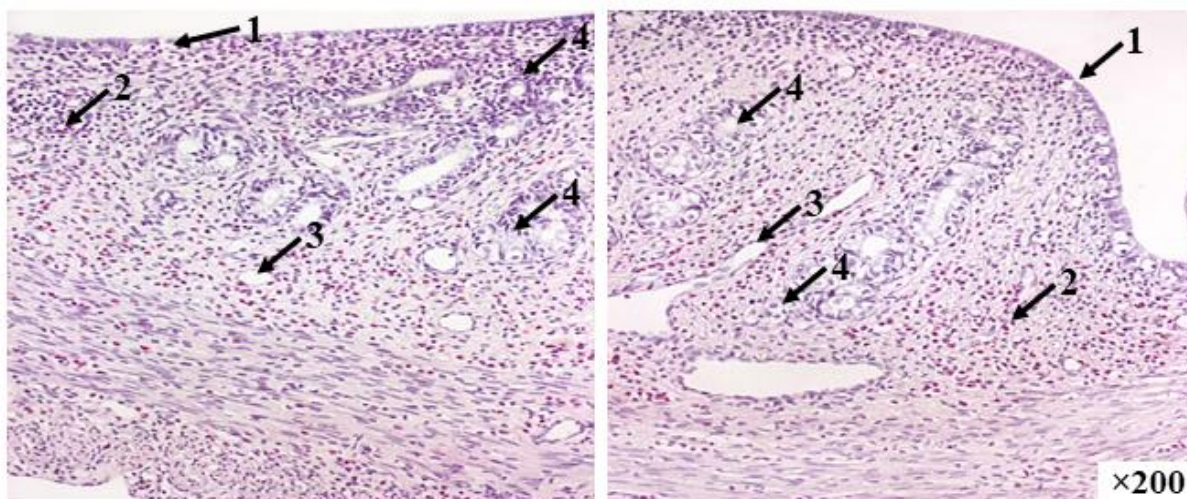


Рис. 3.13. Ендометрій самки щура VM(90) серії. Позначення: 1 – атрофічні зміни епітеліального пласту; 2 – запальна інфільтрація; 3 – циркуляторні порушення; 4 – патологічне формування залоз. Забарвлення гематоксилін-еозином. Збільшення $\times 200$.

У міометрії також відмічалось значне візуальне стоншення і порушення структури м'язових шарів, зменшення розмірів міоцитів та їх вакуольна дистрофія, апоптоз, явища запалення та склерозування міжм'язової сполучної тканини. Міоцити зменшенні в об'ємі, їх ядра конденсовані. Візуально зменшилась і кількість міоцитів, що можливо зумовлено чисельними дистрофічними та апоптичними процесами. Направленість гладких м'язових клітин місцями порушувалась, а їх волокна розділяли потовщені прошарки пухкої волокнистої сполучної тканини. Увагу привертало і те, що запальна інфільтрація переважала саме серед циркулярних м'язових волокон та залишалась менш інтенсивнішою в поздовжньому шарі (рис. 3.14).

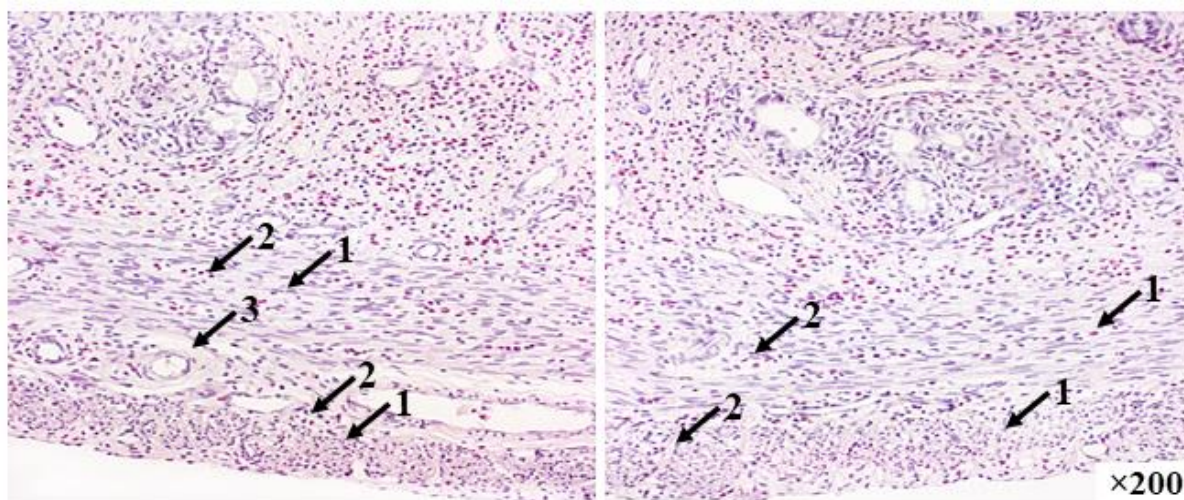


Рис. 3.14. Міометрій самки щура VM(90) серії. Позначення: 1 – атрофічні зміни міометрію; 2 – запальна інфільтрація; 3 – циркуляторні порушення. Забарвлення гематоксилін-еозином. Збільшення $\times 200$.

Дисциркуляторні зміни у слизовій та м'язовій оболонках характеризувались розширенням просвіту та деформацією кровоносних і лімфатичних судин з явищами їх спустошення, інколи повнокров'ям, стазом у капілярах, незначним периваскулярним та інтерстиційним набряком. Окремі ж судини відрізнялись навколосудинним фіброзом, що відображалось порушенням форми їх просвіту. Інколи, у стромі ендометрію та навколо судин міометрію ідентифікувався гемосидерин.

Патологічні зміни у периметрії практично не привертали до себе увагу та були представлені мінімальним набряком.

На противагу цьому, індукований вітаміном Е ефект у матці тварин серії ВМ+Е(90) групи 2 також супроводжувався розвитком численних помірновиражених (3 бали) дегенеративних та атрофічних змін у всіх структурних елементах матки (рис. 3.15), однак інтенсивність порушень була значно нижчою ніж у тварин ВМ(90) та характеризувалася помітною позитивною динамікою до їх стабілізації.

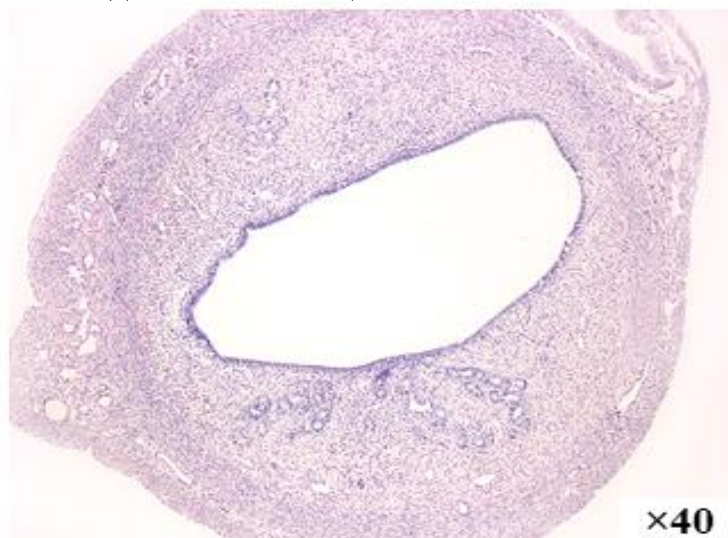


Рис. 3.15. Стінка матки самки щура ВМ+Е(90) серії. Забарвлення гематоксилін-еозином. Збільшення $\times 40$.

Так, стан покривного епітелію значно варіював за рахунок неоднорідності його висоти від кубовидного атрофічно зміненого (з порушенням ядерно-цитоплазматичного співвідношення) до ділянок, де епітеліоцити досягали фізіологічних розмірів. При цьому, переважна більшість нормохромних ядер не змінених клітин мала базальне розташування, інші ж, розташовувались хаотично по відношенню до цитоплазми. Ядра змінених клітин низького стовпчастого епітелію були щільно упаковані разом із зменшеною цитоплазмою. Такий індіферентний епітелій вистилав внутрішню поверхню матки, а також зустрічався і в залозах дрібного калібру. Значно рідше проявлялись ознаки вакуольної та кістозної дегенерації люмінальних та залозистих епітеліоцити. Вогнищево

зустрічались клітин у стадії апоптозу. Місцями порушувалась стратифікація епітеліоцитів. Меншими були прояви фіброзування строми ендометрію та дезорганізації її волокон. Знизилась клітинність строми одночасно з збільшенням стромального колагену. При цьому, ядра стромальних клітин мали округлі гіперхромні ядрця. Серед строми помірної щільності були як одинокі, так і згруповані нерівномірно розкидані залози (рис. 3.16). Навколо деяких залоз візуалізувався концентричний фіброз та незначний набряк. Лише поодинокі залози зазнавали дистрофічно-кістозних змін. При цьому, на тлі виразних ознак атрофії епітелію більшості залоз та стоншення строми, спостерігались збільшення кількості активних залоз з нормальною висотою клітин та ознаками їх секреції.

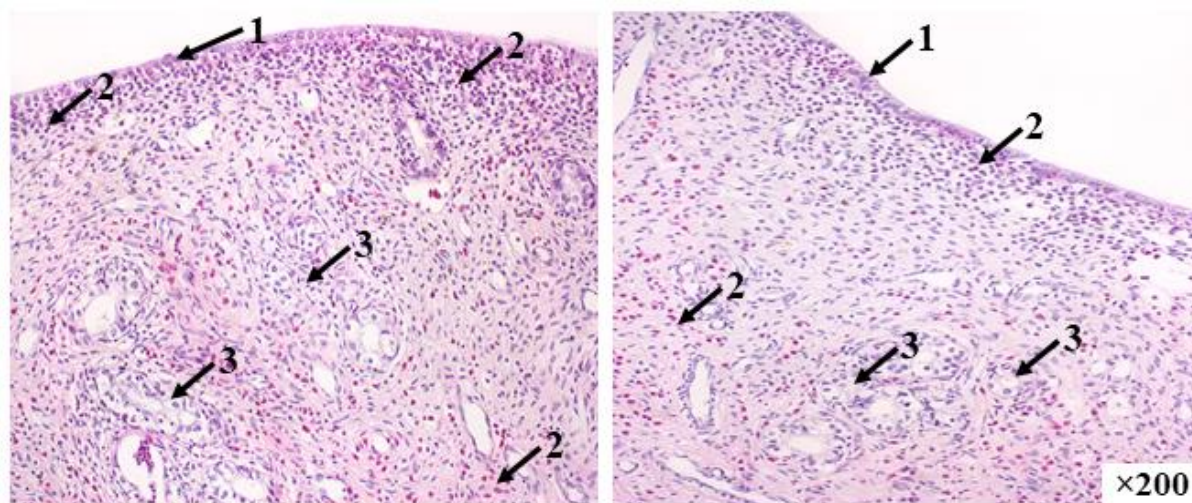


Рис. 3.16. Ендометрій самки щура VM+E(90) серії. Позначення: 1 – атрофічні зміни епітеліального пласту; 2 – запальна інфільтрація; 3 – циркуляторні порушення; 4 – патологічне формування залоз. Забарвлення гематоксилін-еозином. Збільшення $\times 200$.

Динаміку змін було відмічено і у м'язовій оболонці. Границя між ендометрієм та міометрієм, а також поділ останнього на циркулярний та поздовжній шари, чітко візуалізувались. Однак, міометрій був стоншений за рахунок зменшення розмірів гладких м'язових клітин (рис. 3.17). Морфологію клітин також порушували наявність білкової дистрофії та апоптозу. Помітна конденсація ядер міоцитів та зменшення об'єму їх

цитоплазми. Представлені зміни характеризувались порушенням організації окремих м'язових волокон, їх направленості та незначного набряку. Поміж міоцитів ідентифікувались запальні клітини, численність яких переважала у циркулярному шарі. При цьому, товщина м'язово-циркулярного компоненту міометрію переважала над м'язово-поздовжнім. Порушення у серозній оболонці матки не виявлялись.

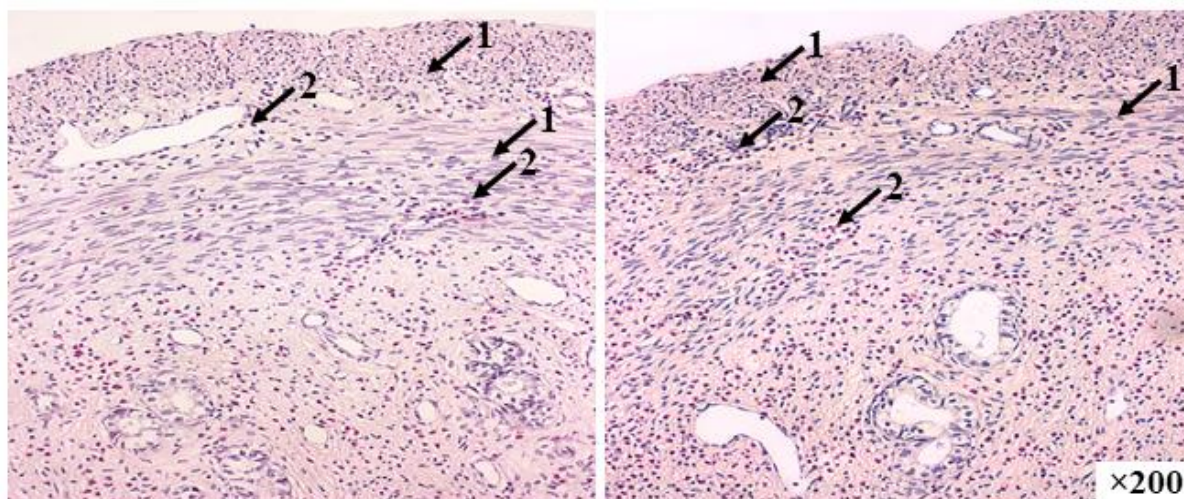


Рис. 3.17. Міометрій самки щура VM+E(90) серії. Позначення: 1 – атрофічні зміни міометрію; 2 – запальна інфільтрація. Забарвлення гематоксилін-еозином. Збільшення $\times 200$.

Помірна змішаноклітинна запальна інфільтрація різного ступеня виразності з переважанням імунокомпетентних клітин лімфоцитарного ряду ідентифікувалась як у ендометрії, так і в міометрії. Також, клітини запального інфільтрату розсіювались периваскулярно. Дифузні ж вогнища локалізувались зазвичай субепітеліально. Просвіт окремих судин деформувався за рахунок незначного периваскулярного фіброзування та незначного набряку. Артеріальні судини були звужені та спустошені, а венозні – незначно розширені та повнокровні.

На 180-ту добу експерименту (відновний період) морфологія маток тварин групи 3 все ще відрізнялася від Кнтр, однак було встановлено відмінності стану матки між серіями, що було розцінено як ознаки тенденції до стабілізації та наближення до норми. Встановлено певне зменшення

мінливості морфологічних трансформацій структурних елементів стінки матки щурів 8-ої (ВМ(90)+90відн), 9-ої (ВМ(90)+90відн(Е)) і 10 (ВМ+Е(90)+90відн(Е)) серій групи 3, в порівнянні з попередньою групою. Варіабельність та виразність гетерогенних змін різнилися інтенсивністю та швидкістю реадптації (рис. 3.18).

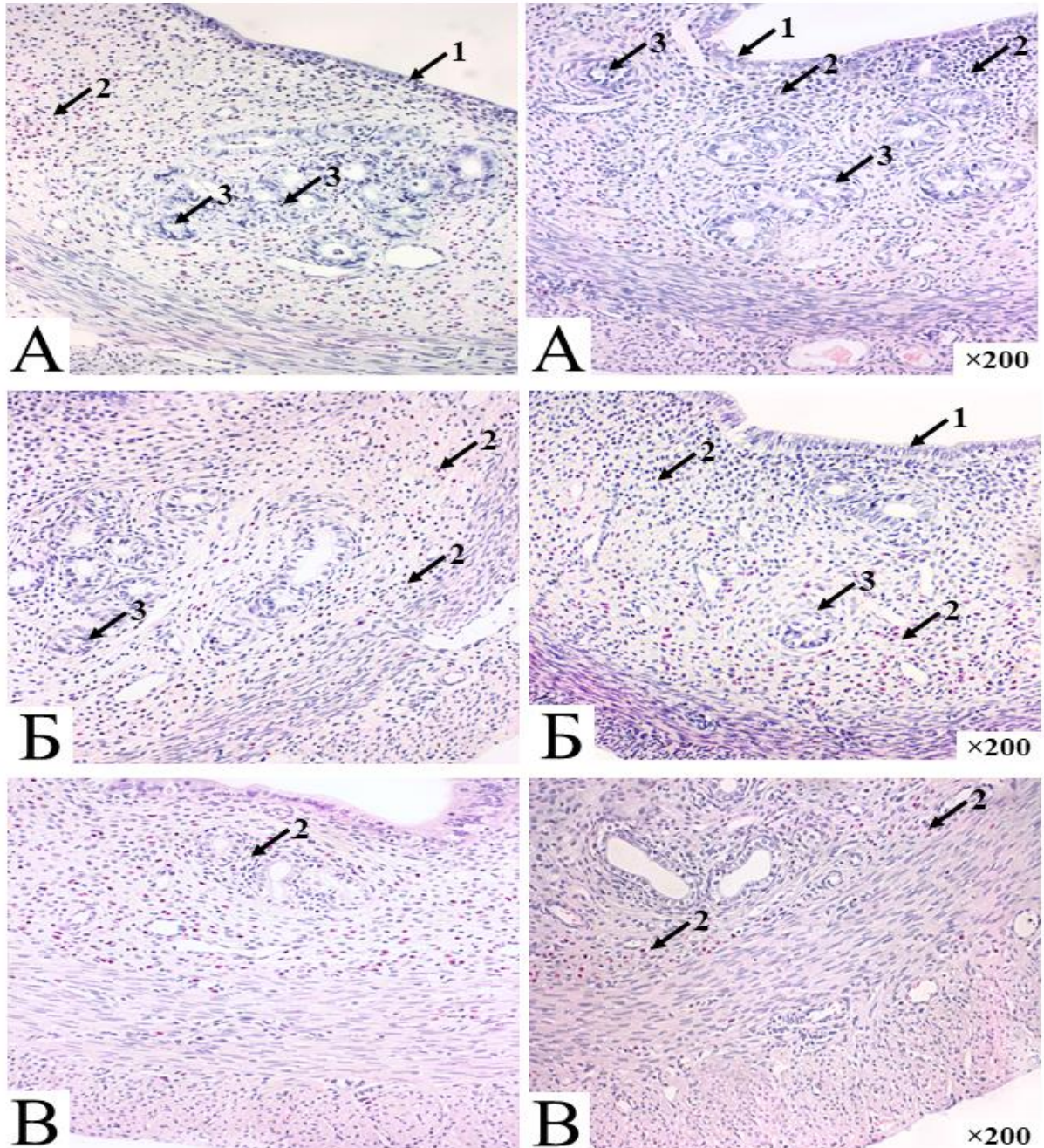


Рис. 3.18. Стінка матки самки щурів ВМ(90)+90відн (А), ВМ(90)+90відн(Е) (Б) і ВМ+Е(90)+90відн(Е) (В) серій. Позначення: 1 – порушення висоти епітелію; 2 – запальна інфільтрація; 3 – неправильне формування залоз. Забарвлення гематоксилін-еозином. Збільшення $\times 200$.

Незважаючи на припинення надходження ВМ до організму, атрофічні зміни у матці тварин переважали над частково стабілізованими ділянками. У всіх тварин даної групи все ще спостерігалось витончення слизової та м'язової маткових оболонок. Епітелій ендометрію передувався від кубоподібного до високого стовпчастого (з незначним переважанням останнього), а його стратифікація не порушувалась. Низький стовпчастий епітелій зустрічався поодиноким та локалізувався виключно серед люмінальних епітеліоцитів. У той же час сплюснутих епітеліоцитів не спостерігалось. Серед епітеліальних клітин просвіту ендометрія та залоз помітні явища дистрофії та апоптозу. Ознаки десквамацій люмінальних епітеліоцитів у просвіт матки були відсутні.

На тлі помірно розширених або «склеяних» залоз частіше помітні залози звичайної будови з нормальним діаметром їх просвіту. Навколо закритих залоз помітний перигландулярний фіброз. Більш помітною стала і активність окремих залоз, хоча стромальний компонент все ще достовірно переважав над залозистим. Строма ендометрію характеризувалась ознаками збільшеної кількості фібробластів з вогнищами змішаноклітинного запального інфільтрату та слабкого набряку волокнистого компонента і навколо судин. При цьому, запальні клітини еозинофільного ряду не зустрічались, а інфільтрат був представлений переважно еозинофілами та лімфоцитами. Серед збільшеної клітинності ендометріальної строми, не подалік від судин, ідентифікувався гемосидерин. Відповідні морфологічні трансформації спостерігались вздовж усієї слизової оболонки матки.

Лінія переходу з внутрішнього шару слизової оболонки матки в циркулярний шар м'язової оболонки чітко візуалізувалась. Перехід між субмукозним та субсерозним шарами гладких м'язових волокон також виразно диференціювався. При цьому, м'язова оболонка залишалась зміненою з присутністю ознак атрофічного характеру, а її товщина поступалась фізіологічній нормі. Структурна організація м'язових волокон та їх направлення були переважно стабільними, хоча і зустрічались вогнища їх

дистрофічних змін і набряку. Розмір клітин був зменшений. Ядра переважної кількості міоцитів були гіперхромними, а цитоплазма світлою. Форма клітин була характерною для шару міометрію, хоча поодинокі і зустрічались міоцити з дестабілізацією структури мембрани. Серед атрофічно змінених міоцитів розташовувалась значна кількість клітин у стані вакуольної дистрофії (місцями вакуолі повністю заміняли ядро) та з одинокими явищами апоптозу. Слабовиражена запальна інфільтрація зустрічалась і в міометрії. Так, вогнища запальних клітин були згрупованими та розміщувались серед м'язових волокон (з переважанням у циркулярному шарі) та неподалік від судин. При цьому, інтенсивність запалення у міометрії поступалась розкиданим вогнищам інфільтрації у стромі ендометрію.

Відзначався спад виразності циркуляторних порушень у стінці органа. Форма судин коливалась від сплюснутих до розширених. Просвіт же окремих судин був деформований, а їх стінка дещо спазмованою та набряклою. Поодинокі зустрічались судини з периваскулярним фіброзом. Зазвичай, судини були спустошені, однак зустрічались і мікроциркуляторні порушення у вигляді гіперемії, повнокров'я та стазу.

Вищеописані патоморфологічні зміни будови матки були присутні у всіх тварин групи 3. Однак, варто відмітити, що інтенсивність даних репаративних перетворень наглядно відрізнялася між серіями та залежала від експериментального сценарію. Так, виразніша тенденція до поступового відновлення товщини та фізіологічного гомеостазу всіх структурних елементів матки відмічалась у серіях VM(90)+90відн(E) (1–2 бали) та VM+E(90)+90відн(E) (1 бал), у той час лише мінімальні ознаки адаптативних змін були у серії VM(90)+90відн (2–3 бали). Найближче ж, до морфологічного стану норми матки, вдалось наблизитись тваринам, які вживали вітамін E упродовж усього експерименту (VM+E(90)+90відн(E)). Незважаючи на це, повної нормалізації всіх показників не спостерігалось у жодній серії.

Отже, безперервний вплив ВМ на організм щурів упродовж 30-ти днів супроводжувався розвитком гіперпластичних трансформацій та численних патологічних змін у всіх структурних оболонках матки. Пролонгація ж експозиції ВМ до 90-ти днів характеризувалася порушеннями протилежного генезу у вигляді селективної атрофії ендометрію та міометрія щурів. Натомість, відміна дії ксенобіотиків та тривалий період регенеративної адаптації характеризувались лише слабо та помірно вираженими ознаками відновлення та стабілізації у стінці матки тварин. Важливо, що застосування вітаміну Е на тлі впливу полютантів у серіях ВМ+Е(30), ВМ+Е(90), ВМ(90)+90відн(Е) та ВМ+Е(90)+90відн(Е) сприяло переконливому пригніченню розвитку патоморфологічних трансформацій у матці, у порівнянні серіям без коректора.

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. **Sikora K**, Lyndin M, Hyriavenko N, Lyndina Yu, Sikora V, Romaniuk A. Morphological features of the rat uterus. *Pol Merkur Lekarski*. 2021;XLIX(294):420–5.
2. **Sikora K**, Lyndin M, Sikora V, Hyriavenko N, Piddubnyi A, Lyndina Y, Awuah WA, Abdul-Rahman T, Korobchanska A, Alexiou A, Romaniuk A. Heavy metals effect on the rat uterus and effectiveness of vitamin E treatment. *JJBS*. 2023;16(3):455-65. DOI: 10.54319/jjbs/160309.
3. **Сікора КО**, Линдін МС, Гирявенко НІ, Сікора ВВ, Романюк АМ. Гістологічні зміни в стінці матки щурів під дією солей важких металів. Матеріали третьої всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю «Теорія та практика сучасної морфології»; 9-11 жовтня 2019 р.; м. Дніпро, Україна. Дніпро: Дніпропетровська медична академія МОЗ України; 2019. с. 123–4.
4. **Сікора КО**, Линдіна ЮМ, Авуах ВЕ, Романюк АМ. Оцінка змін морфологічної будови та елементного складу матки щурів після відміни дії важких металів. Матеріали Всеукраїнської міждисциплінарної науково-

практичної конференції з міжнародною участю «УМСА – століття інноваційних напрямків та наукових досягнень (до 100-річчя від заснування УМСА)» присвячена 100-річчю заснування Української медичної стоматологічної академії; 8 жовтня 2021; Полтава, Україна. Полтава: Полтавський державний медичний університет; 2021. с. 156–7.

5. **Сікора КО.** Морфологічні зміни в міометрії щурів за умов впливу солей важких металів. XIII Всеукраїнська науково-практична конференція «Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм»; 26-28 жовтня 2022 р.; м. Тернопіль, Україна. Тернопіль: Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України; 2022. с. 64.

3.2. Морфометричні зміни товщини матки щурів на тлі впливу ВМ.

У зв'язку з вираженими візуальними варіаціями компонентів стінки матки щурів, важливим етапом дослідження стало встановлення цифрових меж товщини органа (Додаток В). Першочергово, було визначено метричні порогові значення контрольних тварин ($n = 24$) серії 1 групи 1, серії 4 групи 2 та серії 7 групи 3, а також їх мінливість на 30-ту, 90-ту та 180-ту доби спостереження (табл. 3.2.1). Так, товщина матки гризунів коливались від 774,19 мкм до 877,51 мкм (у середньому $827,4 \pm 42,29$ мкм) на 30-ту добу досліду, а також від 756,92 мкм до 902,26 мкм (у середньому $840,02 \pm 47,8$ мкм) та від 702,82 мкм до 881,84 мкм (у середньому $815,36 \pm 54,89$ мкм) на 90-ту та 180-ту доби, відповідно. Упродовж експерименту показники коливались у середньому на рівні $827,6 \pm 47,56$ мкм.

Таблиця 3.2.1.

Показники товщини стінки матки щурів Кнтр серій ($n = 24$).

	Ендометрій		Міометрій		Периметрій
	Покривний епітелій	Власна пластинка	Циркулярний шар	Поздовжній шар	
Група 1	510,23 \pm 42,26		307,74 \pm 25,71		9,43 \pm 1,03
Серія 1 30 доба	22,76 \pm 2,2	487,47 \pm 41,28	162,82 \pm 16,29	144,92 \pm 20,17	
Група 2	528,96 \pm 44,39		321,34 \pm 30,46		9,72 \pm 0,64
Серія 4 90 доба	22,31 \pm 2,13	506,65 \pm 44,21	155,05 \pm 12,47	146,29 \pm 16,77	
Група 3	495,46 \pm 49,39		310,07 \pm 27,0		9,83 \pm 0,98
Серія 7 180 доба	23,02 \pm 2,29	472,44 \pm 47,59	158,96 \pm 15,35	151,12 \pm 16,36	

Примітка: дані представлені у мкм як $M \pm SD$. Показники аналізували за допомогою однофакторного дисперсійного аналізу ANOVA з поправкою за Бонферроні.

Розміри матки тварин залежали від товщини її основних компонентів – ендометрію та міометрію. Встановлено, що на 30-й, 90-й та 180-й дні дослідження у інтактних щурів товщина ендометрію (від 452,18 мкм до

582,8 мкм, від 455,69 мкм до 596,61 мкм та від 418,11 мкм до 548,28 мкм, відповідно) та міометрію (від 272,92 мкм до 336,28 мкм, від 276,41 мкм до 337,93 мкм та від 269,93 мкм до 347,69 мкм, відповідно) формувались за рахунок висоти покривного епітелію (від 19,6 мкм до 26,51 мкм, від 19,25 мкм до 24,81 мкм та від 19,54 мкм до 25,02 мкм, відповідно) та власної пластинки (від 428,8 мкм до 556,29 мкм, від 431,88 мкм до 571,8 мкм та від 398,57 мкм до 523,51 мкм, відповідно), внутрішнього (від 142,34 мкм до 187,97 мкм, від 139,62 мкм до 173,82 мкм та від 133,95 мкм до 179,43 мкм, відповідно) та зовнішнього (від 124,38 мкм до 177,37 мкм, від 121,71 мкм до 166,34 мкм та від 134,36 мкм до 181,42 мкм, відповідно) м'язових шарів, відповідно. При цьому, показники периметрію фактично не коливались (від 8,03 мкм до 11,08 мкм, від 8,69 мкм до 10,64 мкм та від 8,73 мкм до 11,22 мкм, відповідно). Варто відмітити, що показники морфометричного аналізу матки щурів у різні вікові терміни характеризуються відносною стабільністю, а відмінності між ними були незначними ($p > 0,05$) як в цілому, так і для кожної окремо взятої оболонки органа.

На противагу цьому, у експериментальних тварин показники морфометрії зазнавали значних модифікацій у залежності від тривалості та особливостей впливу СВМ на організм.

Так, у тварин ВМ(30) спостерігалось значне потовщення стінки матки на 31,03 % (у середньому $1084,14 \pm 58,94$ мкм, $t = 10,01$; $p < 0,0001$) у співставленні з вищевказаними значеннями норми (рис. 3.2.1). Це супроводжувалось порушенням середніх показників товщини всіх оболонок органа та їх компонентів: показники слизової оболонки зросли на 37,84 % ($703,29 \pm 49,27$ мкм, $t = 8,42$; $p < 0,0001$) за рахунок висоти епітеліоцитів (на 97,06 % ($44,85 \pm 6,38$ мкм), $t = 9,26$; $p < 0,0001$) та строми (на 35,07 % ($658,44 \pm 51,88$ мкм), $t = 7,3$; $p < 0,0001$); показники м'язової оболонки зросли на 20,54 % ($370,96 \pm 28,63$ мкм, $t = 4,65$; $p < 0,0004$) за рахунок збільшення циркулярного (на 14,61 % ($186,61 \pm 21,11$ мкм), $t = 2,52$; $p = 0,024$) та поздовжнього (на 27,21 % ($184,35 \pm 16,79$ мкм), $t = 4,25$; $p = 0,0008$) шарів.

Товщина серозної оболонки була в межах 4,88 % ($9,89 \pm 0,82$ мкм, $t = 1,12$; $p = 0,28$).

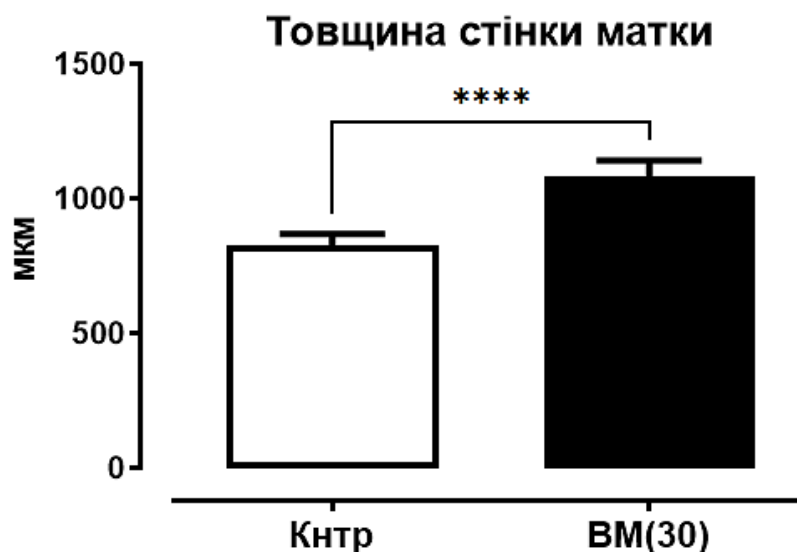


Рис. 3.2.1. Показники товщини матки щурів серії ВМ(30) в порівнянні з Кнтр. Дані представлені як $M \pm SD$ (Бари – стиль Т із верхнім напрямком). Рівні значущості для t-критерію Стьюдента: **** $p < 0,001$.

Схожа тенденція змін товщини матки зумовлена дією токсикантів навіть на тлі використання вітаміну Е відмічена у експериментальних тварин серії ВМ+Е(30) (рис. 3.2.2).

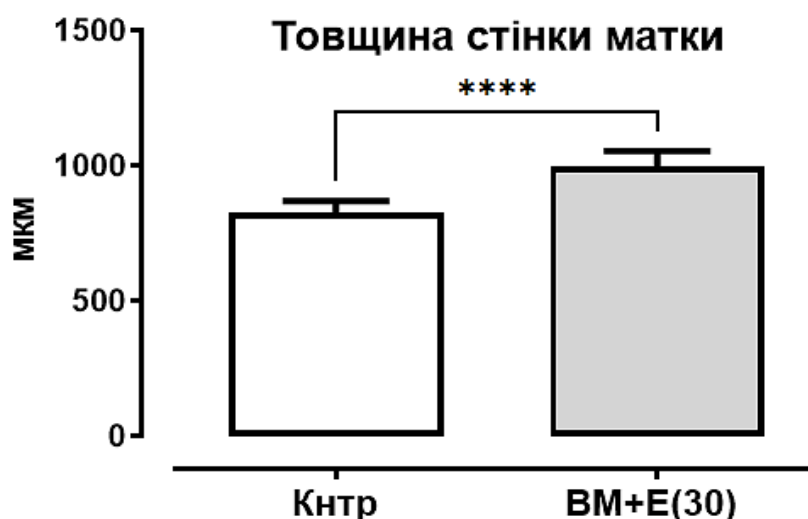


Рис. 3.2.2. Показники товщини матки щурів серії ВМ+Е(30) в порівнянні з Кнтр. Дані представлені як $M \pm SD$ (Бари – стиль Т із верхнім напрямком). Рівні значущості для t-критерію Стьюдента: **** $p < 0,001$.

Так, відносно контролю зросли середні морфометричні дані ендометрію та міометрію до $631,98 \pm 42,82$ мкм (на 23,86 %, $t = 5,73$; $p < 0,0001$) та $356,28 \pm 27,41$ мкм (на 15,77 %, $t = 3,65$; $p = 0,003$), у той час як периметрій залишався без змін – 0,42 % ($9,47 \pm 0,77$ мкм, $t = 0,09$; $p = 0,93$). При цьому, висота епітеліального пласту збільшились на 63,75 % ($37,27 \pm 4,07$ мкм, $t = 8,88$; $p < 0,0001$), субепітеліальної стріми – на 22 % ($594,71 \pm 44,42$ мкм, $t = 5,02$; $p = 0,0002$), циркулярних (173,06 \pm 17,92 мкм, $t = 1,2$; $p = 0,25$) та поздовжніх (183,22 \pm 23,01 мкм, $t = 3,54$; $p = 0,003$) м'язових волокон – на 6,29 % та 26,43 %. Сумарний показник також зазнав зростання на 20,58 % ($997,72 \pm 56,47$ мкм, $t = 6,83$; $p < 0,0001$).

Однофакторний аналіз показників тварин групи 1 допоміг встановити значне їх переважання у експериментальних серіях (ВМ(30) та ВМ+E(30)) відносно серії Кнтр ($F = 48,46$; $p < 0,0001$) (рис. 3.2.3), зокрема слизової ($F = 37,87$; $p < 0,001$) та м'язової ($F = 11,77$; $p < 0,0004$) оболонки, а також їх структурних елементів – епітеліального пласту ($F = 48,74$; $p < 0,0001$), стріми ($F = 28,14$; $p < 0,0001$) та субсерозного ($F = 9,92$; $p < 0,0009$) шару.

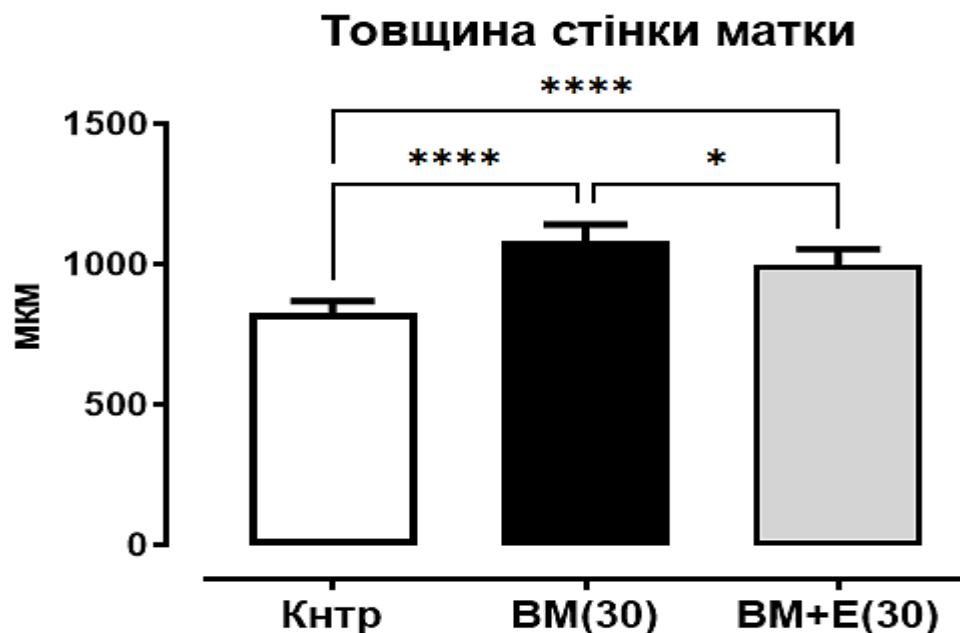


Рис. 3.2.3. Порівняння показників товщини матки тварин серій ВМ(30), ВМ+E(30) та Кнтр. Дані представлені як $M \pm SD$ (Бари – стиль Т із верхнім напрямком). Рівні значущості для однофакторного дисперсійного аналізу ANOVA з поправкою за Бонферроні: * $p < 0,05$; **** $p < 0,001$.

При цьому, серія ВМ+Е(30) була дещо більш наближена до норми ($t = 6,42$; $p < 0,0001$), що проявлялось меншою різницею у 7,97 % ($t = 3,26$; $p < 0,05$) порівняно з результатами серії ВМ(30). Розміри оболонки органа були меншими на 10,14 % для ендометрію та на 3,96 % для міометрію, відповідно. У свою чергу, товщина епітелію, власної пластинки, циркулярного та поздовжнього м'язових шарів були на 16,9 %, 9,68 %, 7,26 % та 0,61 % меншими у серії 3 проти серії 2 (табл. 3.2.2).

Таблиця 3.2.2.

Показники однофакторного дисперсійного аналізу ANOVA з поправкою за Бонферроні між серіями групи 1 ($n = 24$).

	Ендометрій		Міометрій		Периметрій
	Покривний епітелій	Власна пластинка	Циркулярний шар	Поздовжній шар	
Кнтр проти ВМ(30)	$t = 8,61^{***}$		$t = 4,64^{***}$		$t = 1,15$
	$t = 9,72^{***}$	$t = 7,42^{***}$	$t = 2,56$	$t = 3,91^{**}$	
Кнтр проти ВМ+Е(30)	$t = 5,43^{***}$		$t = 3,56^{**}$		$t = 0,09$
	$t = 6,38^{***}$	$t = 4,66^{***}$	$t = 1,1$	$t = 3,8^{**}$	
ВМ(30) проти ВМ+Е(30)	$t = 3,18^{***}$		$t = 1,08$		$t = 1,06$
	$t = 3,34^{**}$	$t = 2,77^*$	$t = 1,46$	$t = 0,11$	

Примітка: Рівні значущості: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$.

Протилежними виявились цифрові показники товщини матки і компонентів її будови щурів експериментальних серій групи 2 по відношенню як до контрольних значень (табл. 3.2.3), так і до результатів групи 1 гризунів з схожим дизайном дослідження.

У серії ВМ(90) щурів, детальний аналіз товщини органа допоміг виявити відповідне стоншення ендометріальної оболонки на 40,28 % ($t = 10,16$; $p < 0,0001$) (враховуючи зниження висоти покривного епітелію на 39,31 % ($t = 6,92$; $p < 0,0001$) та власної пластинки на 40,32 % ($t = 9,87$;

$p < 0,0001$) та м'язової оболонки – на 35,28 % ($t = 7,67$; $p < 0,0001$) (враховуючи зменшення розмірів внутрішнього (на 34,39 %, $t = 8,07$; $p < 0,0001$) та зовнішнього (на 36,23 %, $t = 6,14$; $p < 0,0001$) шарів). Товщина серозної оболонки не зазнавала достовірних змін та перевищувала контрольні показники всього на 2,88 % ($t = 0,86$; $p = 0,41$).

Таблиця 3.2.3.

Показники товщини стінки матки щурів групи 2 на 90-ту добу ($n = 24$).

	Ендометрій		Міометрій		Периметрій
	Покривний епітелій	Власна пластинка	Циркулярний шар	Поздовжній шар	
Кнтр	528,96±44,39		321,34 ± 30,46		9,72 ± 0,64
	22,31 ± 2,13	506,65 ± 44,21	155,05 ± 12,47	146,29 ± 16,77	
ВМ(90)	315,91 ± 39,36***		195,03 ± 30,49***		10,0 ± 0,65
	13,54 ± 2,89***	302,37 ± 38,37***	101,73 ± 113,9***	93,29 ± 17,75***	
ВМ+Е(90)	381,51 ± 39,72***		230,34 ± 24,14***		9,53 ± 0,8
	17,38 ± 2,37***	364,13 ± 40,05***	114,35 ± 16,5***	115,99 ± 15,46**	

Примітка: дані представлені у мкм як $M \pm SD$. Рівні значущості експериментальних серій в порівнянні з Кнтр згідно t-критерію Стьюдента: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$.

У той же час, у тварин серії ВМ+Е(90) спостерігалися наступні цифрові трансформації: на 27,88 % ($t = 7,0$; $p < 0,0001$) та на 23,56 % ($t = 5,82$; $p < 0,0001$) знизились параметри товщини ендометрію (за рахунок зменшення висоти епітеліального пласту та власної пластинки на 22,10 % ($t = 4,38$; $p = 0,0006$) та на 28,13 % ($t = 6,76$; $p < 0,0001$), відповідно) та міометрію (за рахунок зменшення товщини шарів з циркулярним та поздовжнім розміщенням м'язових волокон на 26,25 % ($t = 5,57$; $p < 0,0001$) та на 20,71 % ($t = 3,76$; $p = 0,002$), відповідно) при співставленні з контрольними даними. На противагу цьому, розміри периметрію варіювали у межах норми – 1,95 % ($t = 0,54$; $p = 0,6$).

Так, пролонгація термінів дії ВМ на тварин серій ВМ(90) (рис. 3.2.4) та ВМ+Е(90) (рис. 3.2.5) групи 2 сприяла зниженню лінійних параметрів товщини всієї стінки матки відповідно на 37,99 % ($520,93 \pm 59,9$ мкм, $t = 12,46$; $p < 0,0001$) та на 26,03 % ($621,38 \pm 43,76$ мкм, $t = 9,54$; $p < 0,0001$), порівняно зі значеннями Кнтр.

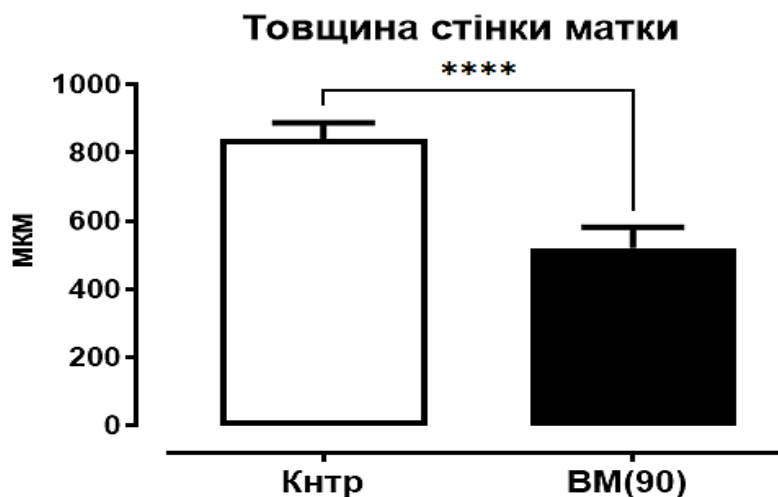


Рис. 3.2.4. Показники товщини матки щурів серії ВМ(90) в порівнянні з Кнтр. Дані представлені як $M \pm SD$ (Бари – стиль Т із верхнім напрямком). Рівні значущості для t-критерію Стьюдента: **** $p < 0,001$.

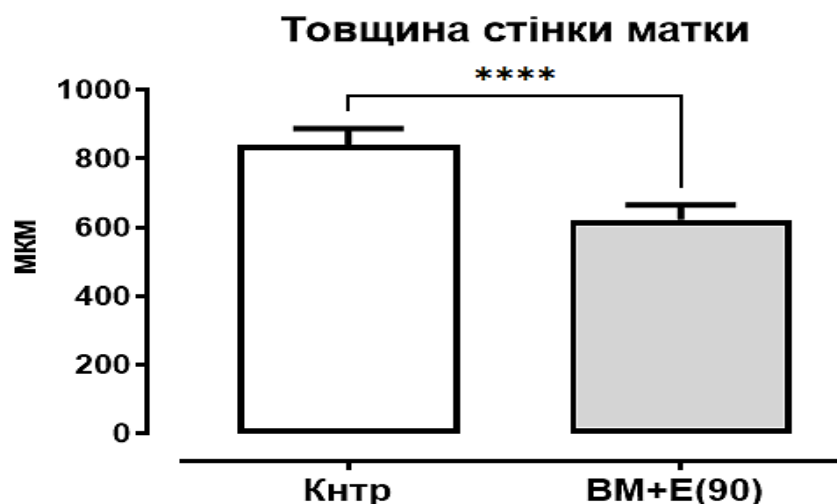


Рис. 3.2.5. Показники товщини матки щурів серії ВМ+Е(90) в порівнянні з Кнтр. Дані представлені як $M \pm SD$ (Бари – стиль Т із верхнім напрямком). Рівні значущості для t-критерію Стьюдента: **** $p < 0,001$.

Більш того, за допомогою однофакторного аналізу за однією ознакою 3-х незалежних серій групи 2, було ідентифіковано достовірні результати зниження показників експериментальних серій (ВМ(90) та ВМ+Е(90)) відносно серії Кнтр ($F = 82,03$; $p < 0,0001$) (рис. 3.2.6), зокрема ендометрію ($F = 56,06$; $p < 0,0001$) та міометрію ($F = 33,19$; $p < 0,0001$), а також їх структурних елементів – епітеліального пласту ($F = 25,14$; $p < 0,0001$), стромы ($F = 52,36$; $p < 0,0001$), субмукозного та субсерозного ($F = 30,0$ та $20,31$; $p < 0,001$) шарів. Показники товщини ендометрію та міометрію серії ВМ(90) були на 17,19 % та на 15,33 % нижчими відносно даних серії ВМ+Е(90), що зумовлено варіативним зменшенням висоти епітеліального (на 22,09 %), стромального (на 16,96 %), м'язово-циркулярного (на 11,04 %) та м'язово-поздовжнього (на 19,57 %) компонентів (табл.3.2.4). Периметрій залишався без змін у всіх серіях ($p > 0,05$) (табл. 3.2.4). Сумарні ж значення відповідних серій різнилися на 16,17 % ($t = 3,94$; $p < 0,01$) у бік від найбільшої різниці у серії ВМ(90) до найменшої ВМ+Е(90).

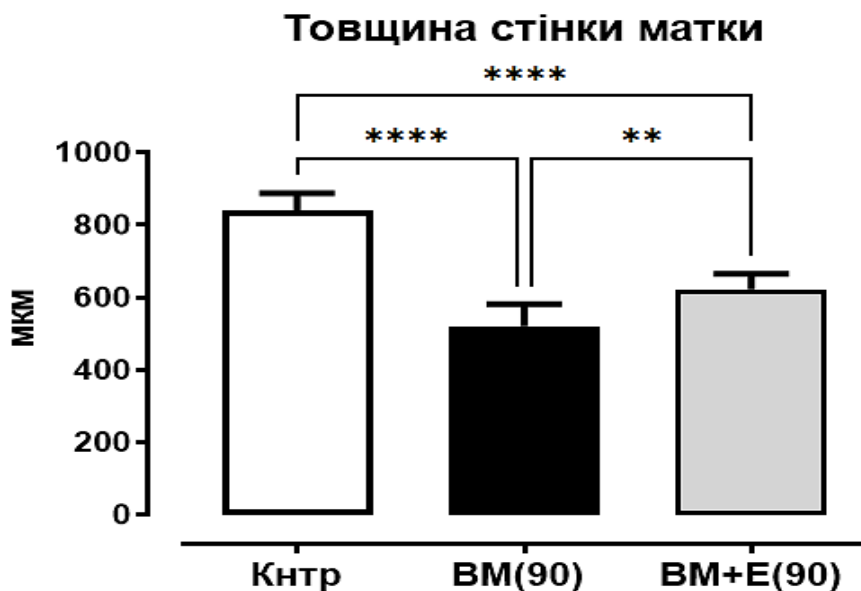


Рис. 3.2.6. Порівняння показників товщини матки тварин серій ВМ(90), ВМ+Е(90) та Кнтр. Дані представлені як $M \pm SD$ (Бари – стиль Т із верхнім напрямком). Рівні значущості для однофакторного дисперсійного аналізу ANOVA з поправкою за Бонферроні: ** $p < 0,01$; **** $p < 0,001$.

Таблиця 3.2.4.

Показники однофакторного дисперсійного аналізу ANOVA
з поправкою за Бонферроні між серіями групи 2 (n = 24).

	Ендометрій		Міометрій		Периметрій
	Покривний епітелій	Власна пластинка	Циркулярний шар	Поздовжній шар	
Кнтр проти ВМ(90)	t = 10,34***		t = 8,0***		t = 0,79
	t = 7,07***	t = 9,98***	t = 7,41***	t = 6,35***	
Кнтр проти ВМ+Е(90)	t = 7,16***		t = 5,34***		t = 0,56
	t = 3,98**	t = 6,96***	t = 5,66***	t = 3,63**	
ВМ(90) проти ВМ+Е(90)	t = 3,18*		t = 2,66*		t = 1,35
	t = 3,1*	t = 3,02*	t = 1,75	t = 2,72*	

Примітка: Рівні значущості: * p < 0,05; ** p < 0,01; *** p < 0,001.

У відновний період (на 180-ту добу експерименту) відмічена значна мінливість товщини стінки матки щурів досліджуваних серій (табл. 3.2.5).

Таблиця 3.2.5.

Показники товщини стінки матки щурів групи 3 на 180-ту добу (n = 32).

	Ендометрій		Міометрій		Периметрій
	Покривний епітелій	Власна пластинка	Циркулярний шар	Поздовжній шар	
ВМ(90)+ 90відн	342,1 ± 46,7***		226,14 ± 27,23***		10,05 ± 0,77
	14,71 ± 2,78***	327,39 ± 47,6***	114,28 ± 18,02***	111,85 ± 13,49***	
ВМ(90)+ 90відн(Е)	383,56 ± 55,8***		241,82 ± 23,71***		9,47 ± 0,69
	16,17 ± 3,04***	367,4 ± 56,46**	127,2 ± 19,01**	114,62 ± 16,31***	
ВМ+Е(90)+ 90відн(Е)	431,67 ± 43,13*		258,65 ± 28,68***		9,91 ± 0,71
	19,09 ± 2,34**	412,58 ± 44,0*	131,48 ± 18,48**	127,17 ± 13,39**	

Примітка: дані представлені у мкм як M ± SD. Рівні значущості для експериментальних серій в порівнянні з Кнтр згідно t-критерію Стюдента: * p < 0,05; ** p < 0,01; *** p < 0,001.

У порівнянні з інтактними значеннями (серія Кнтр), у експериментальних тварин спостерігались менші розміри стінки матки гризунів серії ВМ(90)+90відн (на 29,08 %, $t = 9,15$; $p < 0,0001$) (рис. 3.2.7), серії ВМ(90)+90відн(Е) (на 22,14 %, $t = 6,38$; $p < 0,0001$) (рис. 3.2.8) та серії ВМ+Е(90)+90відн(Е) (на 14,12 %, $t = 4,71$; $p = 0,0003$) (рис. 3.2.9).

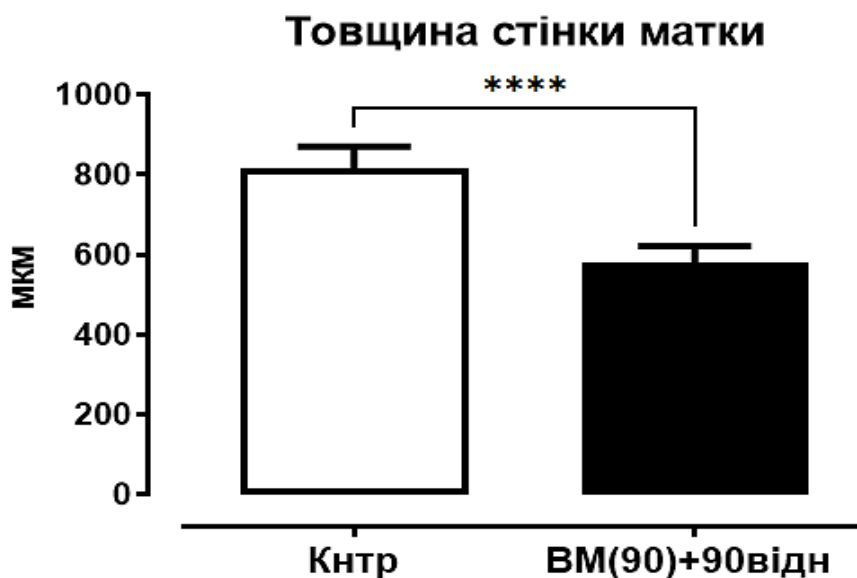


Рис. 3.2.7. Показники товщини матки щурів серії ВМ(90)+90відн в порівнянні з Кнтр. Дані представлені як $M \pm SD$ (Бари – стиль Т із верхнім напрямком). Рівні значущості для t-критерію Стьюдента: **** $p < 0,001$.

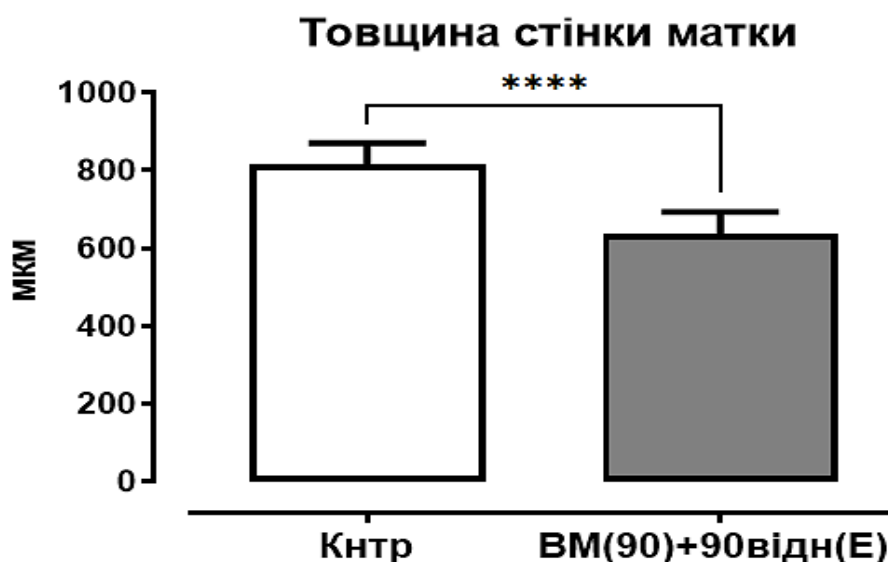


Рис. 3.2.8. Показники товщини матки щурів серії ВМ(90)+90відн(Е) в порівнянні з Кнтр. Дані представлені як $M \pm SD$ (Бари – стиль Т із верхнім напрямком). Рівні значущості для t-критерію Стьюдента: **** $p < 0,001$.

У тварин серії ВМ(90)+90відн все ще спостерігалась стоншення ендометрію та міометрію відповідно на 30,95 % ($t = 6,38$; $p < 0,0001$) та на 27,07 % ($t = 6,19$; $p < 0,0001$), відносно контрольних даних серії 7 (Кнтр). Така різниця показників була зумовлена зниженням висоти епітеліального (на 36,1 %, $t = 6,52$; $p < 0,0001$) та стромального (на 30,7 %, $t = 6,01$; $p < 0,0001$) компонентів ендометрію, внутрішнього (на 28,11 %, $t = 5,34$; $p < 0,0001$) та зовнішнього (на 25,99 %, $t = 5,24$; $p < 0,0001$) шарів міометрію.

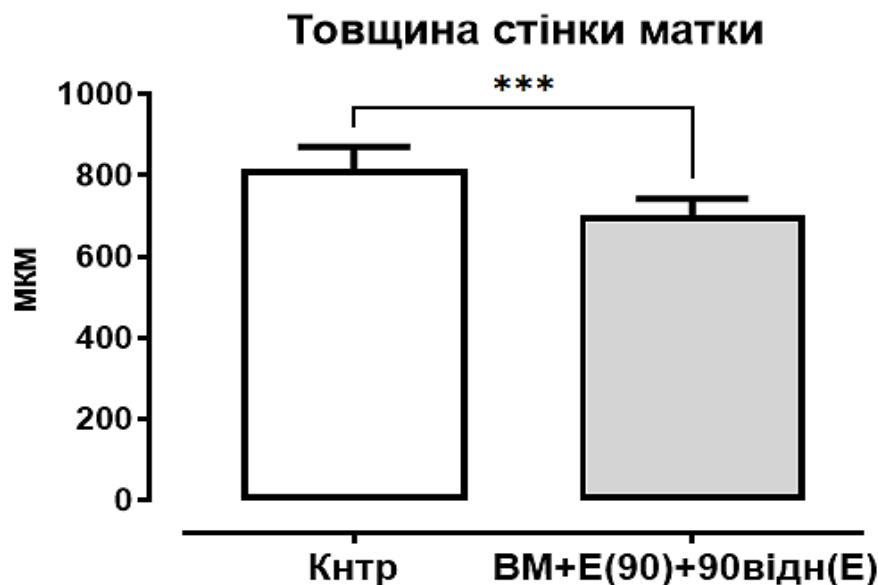


Рис. 3.2.9. Показники товщини матки щурів серії ВМ+Е(90)+90відн(Е) в порівнянні з Кнтр. Дані представлені як $M \pm SD$ (Бари – стиль Т із верхнім напрямком). Рівні значущості для t-критерію Стьюдента: *** $p < 0,001$.

На противагу цьому, можна відмітити позитивну роль застосування вітаміну Е у період відновлення, що проявлялось тенденцією до зниження відсоткової різниці між експериментальними (ВМ(90)+90відн(Е) та ВМ+Е(90)+90відн(Е)) і контрольною (Кнтр) серіями.

Так, висота покривного епітелію матки тварин серій ВМ(90)+90відн(Е) та ВМ+Е(90)+90відн(Е) поступалась контрольним морфометричним параметрам на 29,76 % ($t = 5,1$; $p = 0,0002$) і на 17,07 % ($t = 3,4$; $p = 0,004$), власної пластинки – на 22,23 % ($t = 4,02$; $p = 0,001$) і на 12,67 % ($t = 2,61$; $p = 0,021$), циркулярно розташованих гладких м'язових клітин – на 19,98 % ($t = 3,68$; $p = 0,003$) і на 17,29 % ($t = 3,24$; $p = 0,006$), поздовжньо

розташованих гладких м'язових клітин – на 24,15 % ($t = 4,47$; $p = 0,0005$) і на 15,85 % ($t = 3,2$; $p = 0,006$), відповідно. У свою чергу, загальна товщина слизової та м'язової оболонки була меншою ніж у інтактних тварин на 22,59 % ($t = 4,45$; $p = 0,0008$) і на 22,01 % ($t = 5,37$; $p < 0,0001$) для серії ВМ(90)+90відн(Е), а також на 12,87 % ($t = 2,75$; $p = 0,016$) і на 16,58 % ($t = 5,57$; $p < 0,0001$) для серії ВМ+Е(90)+90відн(Е).

У той же час, показники товщини зовнішньої оболонки органа залишались незмінними у всіх експериментальних серіях групи 3 відповідно – $t = 0,53$ ($p = 0,61$), $t = 0,9$ ($p = 0,38$) та $t = 0,22$ ($p = 0,83$).

При одночасному дисперсійному аналізі з поправкою за Бонферроні всіх морфометричних параметрів стінки матки щурів групи 3 було виявлено достовірність різниці між окремими серіями (табл.3.2.6).

Таблиця 3.2.6.

Показники однофакторного дисперсійного аналізу ANOVA з поправкою за Бонферроні між серіями групи 3 ($n = 32$).

	Ендометрій		Міометрій		Периметрій
	Покривний епітелій	Власна пластинка	Циркулярний шар	Поздовжній шар	
Кнтр проти ВМ(90)+90відн	$t = 6,26^{***}$		$t = 6,28^{***}$		$t = 0,57$
	$t = 6,32^{***}$	$t = 5,91^{***}$	$t = 5,03^{***}$	$t = 5,25^{***}$	
Кнтр проти ВМ(90)+90відн(Е)	$t = 4,57^{***}$		$t = 5,11^{***}$		$t = 0,93$
	$t = 5,21^{***}$	$t = 4,28^{**}$	$t = 3,58^{**}$	$t = 4,88^{***}$	
Кнтр проти ВМ+Е(90)+90відн(Е)	$t = 2,61$		$t = 3,85^{**}$		$t = 0,23$
	$t = 2,99^*$	$t = 2,44$	$t = 3,09^*$	$t = 3,2^*$	
ВМ(90)+90відн проти ВМ(90)+90відн(Е)	$t = 1,69$		$t = 1,17$		$t = 1,5$
	$t = 1,11$	$t = 1,63$	$t = 1,45$	$t = 0,37$	
ВМ(90)+90відн проти ВМ+Е(90)+90відн(Е)	$t = 3,66^{**}$		$t = 2,43$		$t = 0,34$
	$t = 3,33^*$	$t = 3,47^*$	$t = 1,94$	$t = 2,05$	
ВМ(90)+90відн(Е) проти ВМ+Е(90)+90відн(Е)	$t = 1,97$		$t = 1,26$		$t = 1,16$
	$t = 2,22$	$t = 1,84$	$t = 0,48$	$t = 1,68$	

Примітка: Рівні значущості: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$.

Так, товщина ендометрію та міометрію серії VM(90)+90відн були на 10,81 % та на 6,48 % нижчими відносно даних серії VM(90)+90відн(E), а також на 20,75 % та на 12,57 % нижчими відносно даних серії VM+E(90)+90відн(E). Трансформації даних показників залежали від зменшення висоти епітеліального покриття ендометрію (на 9,03 % та 22,94 %), власної пластинки ендометрію (на 10,89 % та 20,65 %), внутрішнього (на 10,89 % та 20,65 %) та зовнішнього (на 2,42 % та 12,05 %) шарів міометрію, відповідно. В той же час, метричні дані відповідних структурних компонентів матки щурів серії VM(90)+90відн(E) не поступались цифровим значенням серії VM+E(90)+90відн(E) – 15,3 %, 10,95 %, 3,26 % та 9,87 %. При цьому, достовірних гістоморфометричних змін периметрію не спостерігалось у жодній серії, а відсоткові значення коливались в межах 3 % ($p > 0,05$). При цьому, загальна товщина матки щурів відрізнялася між досліджуваними серіями групи 3, а достовірність показників залежала від експериментального сценарію (рис. 3.2.10).

Більш того, за допомогою однофакторного аналізу незалежних серій групи 3, було ідентифіковано, що показники товщини матки експериментальних серій VM(90)+90відн, VM(90)+90відн(E) та VM+E(90)+90відн(E) залишалися зниженими відносно серії Кнтр ($F = 33,15$; $p < 0,0001$) (рис. 3.2.10), зокрема за рахунок ендометрію ($F = 14,50$; $p < 0,0001$) та міометрію ($F = 14,88$; $p < 0,0001$), а також їх структурних елементів – епітеліального пласту ($F = 15,54$; $p < 0,0001$), строми ($F = 12,86$; $p < 0,0001$), субмукозного та субсерозного ($F = 8,96$ та $11,46$; $p < 0,001$) шарів.

Так, сумарні вимірювальні результати матки гризунів серії VM(90)+90відн поступались цифровим значенням тварин серії VM(90)+90відн(E) на 8,91 % ($t = 2,26$; $p > 0,05$) та на 17,41 % ($t = 4,88$; $p < 0,0001$) тварин серії VM+E(90)+90відн(E). У той же час, товщина матки була меншою на 9,34 % ($t = 2,62$; $p > 0,05$) у щурів серії VM(90)+90відн(E), відповідно до щурів серії VM+E(90)+90відн(E).

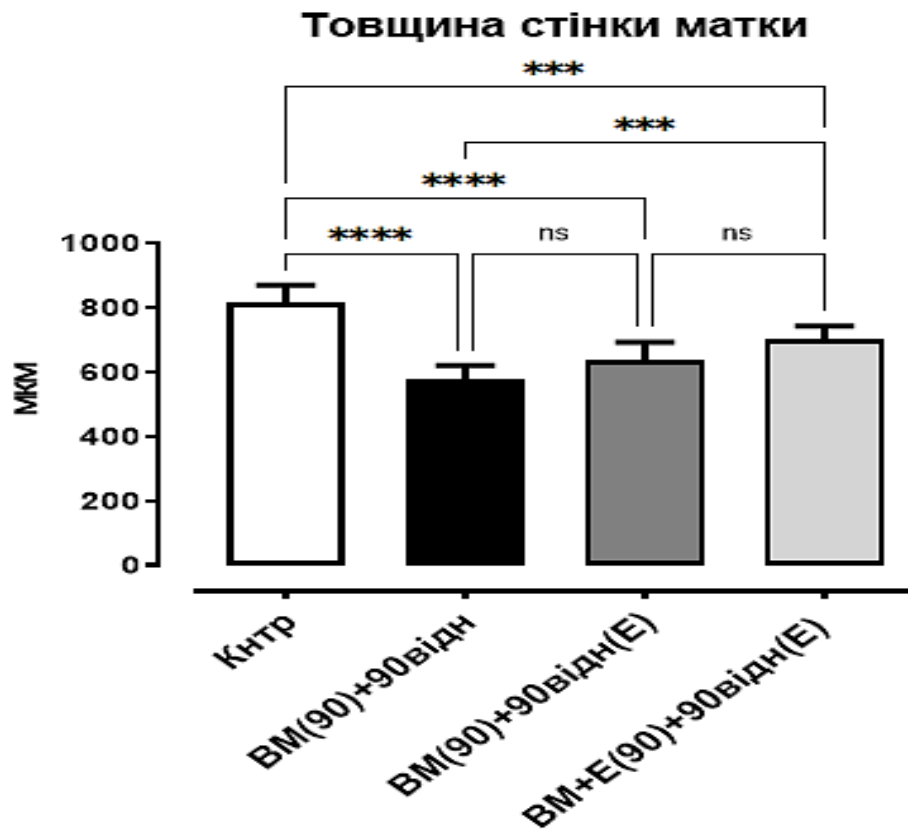


Рис. 3.2.10. Порівняння показників товщини матки тварин серій BM(90)+90відн, BM(90)+90відн(E), BM+E(90)+90відн(E) та Кнтр. Дані представлені як $M \pm SD$ (Бари – стиль Т із верхнім напрямком). Рівні значущості для однофакторного дисперсійного аналізу ANOVA з поправкою за Бонферроні: *** $p < 0,001$; **** $p < 0,001$.

Так, тривала експозиція організму щурів СВМ супроводжується достовірною варіацією товщини матки. При цьому, виражені зміни морфометричних показників спостерігались у ендометрії та міометрії. Важливо відмітити, що за умов пролонгації експерименту, дані морфометрії мали протилежно направлені трансформації цифрових значень. Так, різке потовщення матки на 30-ту добу дії полютантів змінювалось її стоншенням на 90-ту добу. Відновний період характеризувався ознаками стабілізації певних гістоморфометричних параметрів товщини органа, однак досягти показників контролю так і не вдалося. Інтенсивність мінливості розмірів матки щурів була завжди меншою у серіях всіх груп зі застосуванням вітаміну Е.

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. **Сікора КО.** Морфометричні зміни товщини матки щурів після 30 днів впливу солей важких металів. Східноукраїнський медичний журнал. 2022;10(3):274–82. DOI: 10.21272/eumj.2022;10(3):274-282.

2. **Sikora K,** Lyndin M, Sikora V, Hyriavenko N, Piddubnyi A, Lyndina Y, Awuah WA, Abdul-Rahman T, Korobchanska A, Alexiou A, Romaniuk A. Heavy metals effect on the rat uterus and effectiveness of vitamin E treatment. JJBS. 2023;16(3):455-65. DOI: 10.54319/jjbs/160309.

3. **Сікора КО.** Особливості морфометричних змін матки щура у відновний період після відміни тривалого впливу важких металів та за умов використання вітаміну Е. V науково-практична конференція студентів та молодих вчених з міжнародною участю «Від експериментальної та клінічної патофізіології до досягнень сучасної медицини і фармації»; 18 травня 2023 р.; м. Харків, Україна. Х. : НФаУ; 2023. с. 282–3.

3.3. Імуногістохімічні особливості матки щурів за умов впливу ВМ.

Злагоджена робота рецепторного профілю структурних елементів усіх частин стінки матки забезпечує стабільність її будови та функцій. У залежності від досліджуваного рецепторного маркера нами було виявлено їх продукцію як в паренхіматозних, так і стромальних компонентах органа. При цьому, досліджувана панель була представлена антитілами до ER, ПР, Hsp90 α , МКА-РЕА1 та СОД1.

Імуногістохімічне дослідження матки тварин Кнтр серій допомогло встановити позитивну експресію ER та ПР у структурних компонентах органа (рис. 3.3.1). Імунореактивність клітин була представлена позитивним ядерним забарвленням епітеліальних клітин просвіту та залоз, стромальних клітин ендометрію та міометрію. Сильно позитивне забарвленням клітин візуалізувалось майже у всіх клітинах епітелію.

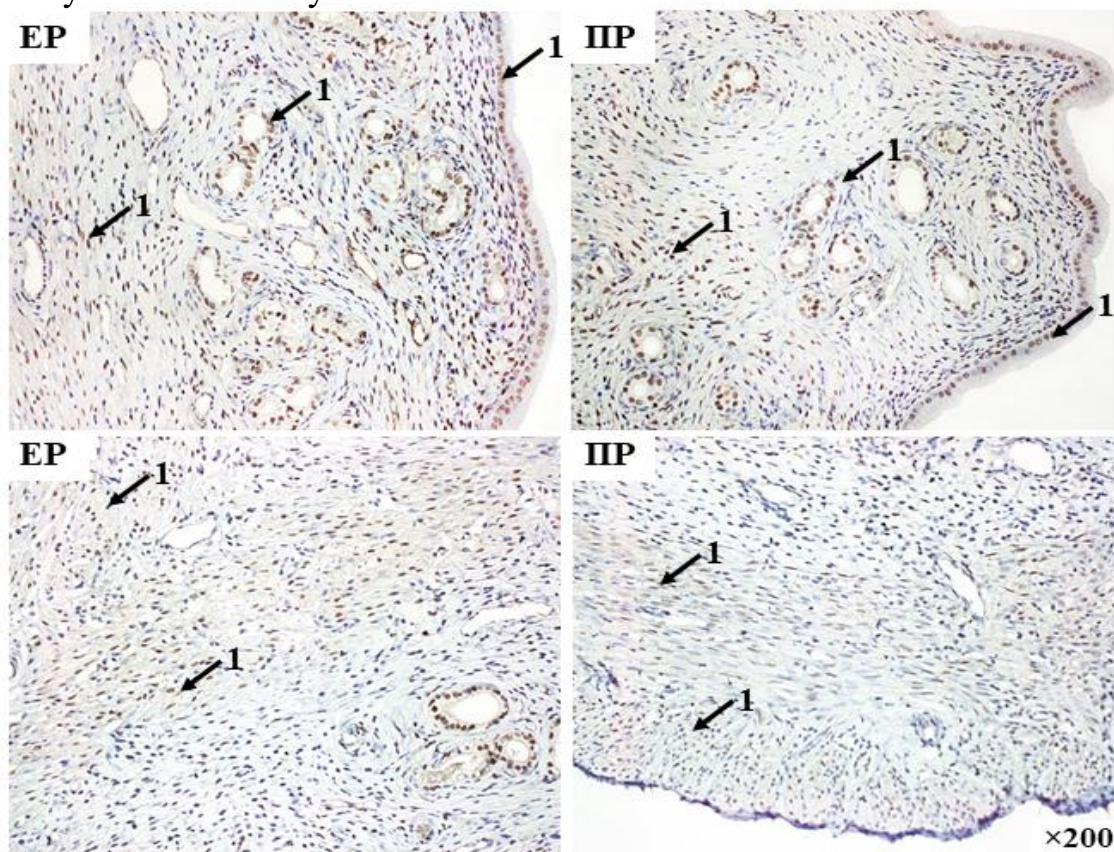


Рис. 3.3.1. Стінка матки щура Кнтр групи. Імуногістохімічне дослідження експресії ER та ПР. Позначення: 1 – позитивна експресія. Хромоген – діамінобензидин. Ядра додатково забарвлені гематоксилином Майєра. Збільшення $\times 200$.

Важливо відмітити, що інтенсивність забарвлення у вигляді коричнево-чорних дрібних внутрішньоядерних гранул та кількість позитивно-забарвлених клітин відрізнялась у різних структурних елементах органа. Так, сильно-позитивне забарвлення клітин до відповідних жіночих статевих гормонів візуалізувалось майже у всіх клітини епітелію (включаючи епітеліальні клітини залоз незалежно від їх глибини). У той же час, імунореактивність ЕР та ПР строми ендометрію була неоднорідною, тобто зустрічались сильно позитивні, слабкопозитивні та негативні ядра, які розташовувалися поодинокі або згруповано. У міометрії ж показники генерації рецепторів до гормонів були дещо нижчими. При цьому, експресія рецепторів до обох маркерів візуально переважала у циркулярному шарі м'язової оболонки. Відсоток та сила експресії ЕР та ПР були вищими на рівні люмінального та залозистого епітелію, ніж на рівні строми та міометрію.

При вивченні гормонального статусу матки тварин серій ВМ(30) та ВМ+Е(30) групи 1 було виявлено достовірні порушення експресії ЕР та ПР порівняно з вихідними контрольними даними (рис. 3.3.2, рис. 3.3.3, табл. 3.3.1). Так, у тварин, які вживали суміш ВМ упродовж 30-ти днів, рівень позитивного забарвлення до ЕР значно зріс ($p < 0,05$) у паренхіматозному, стромальному та міометріальному (субмукозні міоцити) компартментах, порівнянно з контролем. Варто відмітити, що у випадку контролю, рівні експресії ЕР у ендометрії були високими, однак у серії ВМ(30) вони були візуально вищими. Схожа тенденція варіації ЕР спостерігалась і у серії, де дія ВМ нівелювалась вітаміном Е, однак на відміну від попередньої серії, міометрій не зазначав достовірних змін імунореактивності.

Цікаво, що експресія ПР у матці тварин змінювалась у протилежному напрямку. Патерни імунного забарвлення ПР знизились ($p < 0,05$) в ендометріальних епітеліальних, м'язових (циркулярні міоцити) та стромальних клітинах з варіабельною інтенсивністю імунного забарвлення. При цьому, показник позитивно зафарбованих епітеліальних клітин слизової

оболонки та поздовжніх міоцитів м'язової оболонки у серії ВМ(30) був нижчим ($p < 0,05$) ніж у тварин серії ВМ+Е(30).

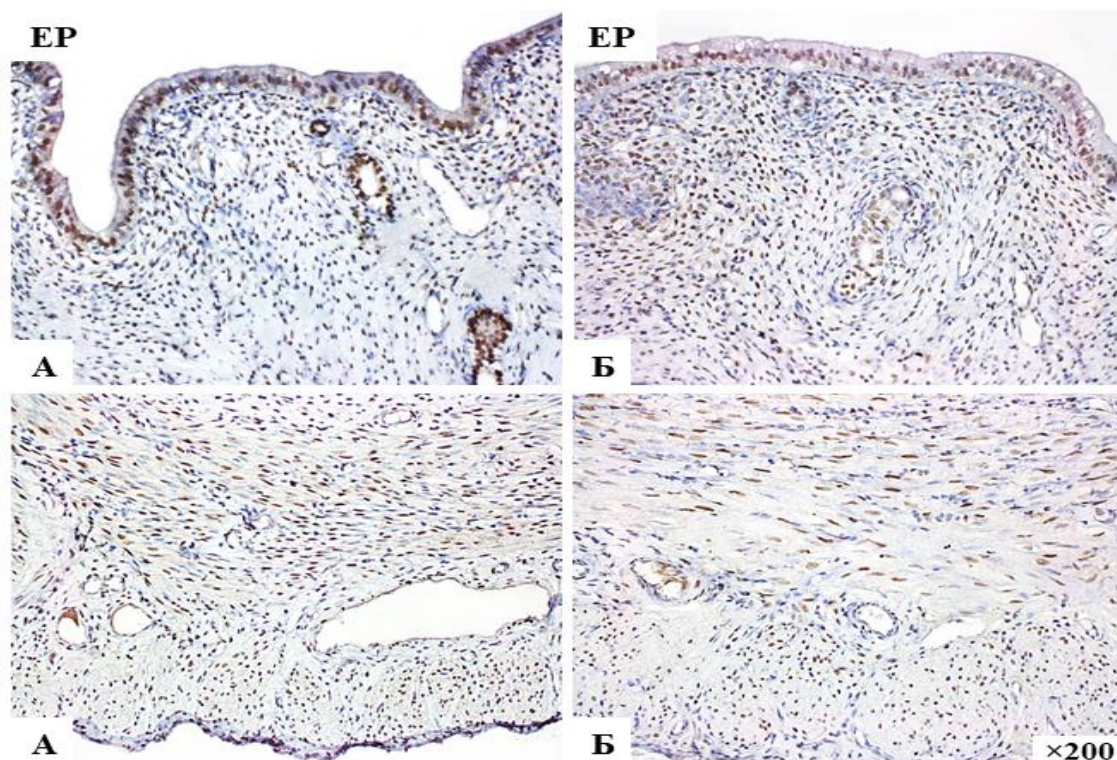


Рис. 3.3.2. Стінка матки щурів ВМ(30) (А) та ВМ+Е(30) (Б) серій. Імуногістохімічне дослідження експресії ЕР. Хромоген – діамінобензидин. Ядра додатково забарвлені гематоксиліном Майєра. Збільшення $\times 200$.

Таблиця 3.3.1.

Рівні експресії ЕР і ПР в матці щурів серій ВМ(30) та ВМ+Е(30).

	Ендометрій				Міометрій			
	Епітелій		Строма		Циркулярний шар		Поздовжній шар	
	ЕР	ПР	ЕР	ПР	ЕР	ПР	ЕР	ПР
Кнтр	+++	+++	++	++	++	++	++	++
ВМ(30)	+++**	+**	+++**	+**	+++**	+**	++	+*
ВМ+Е(30)	+++*	++* [#]	+++*	+*	+++*	+*	++	++ [#]

Примітка: достовірна різниця між групами, * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; # $p < 0,05$. * – порівняно з Кнтр серією; # – порівняно з ВМ(30) серією.

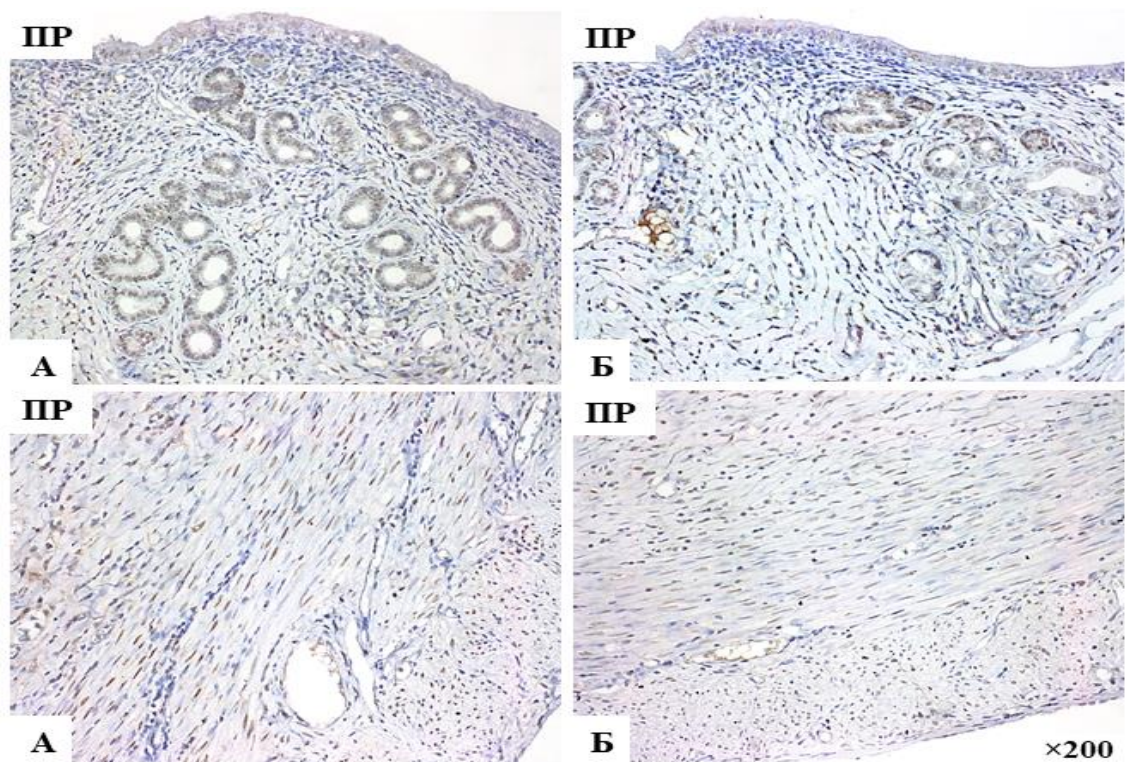


Рис. 3.3.3. Стінка матки щурів VM(30) (А) та VM+E(30) (Б) серій. Імуногістохімічне дослідження експресії ПР. Хромоген – діамінобензидин. Ядра додатково забарвлені гематоксиліном Майєра. Збільшення $\times 200$.

З іншого боку, на 90-ту добу експерименту рівні імунореактивності ER та ПР у матці щурів серій VM(90) та VM+E(90) показали абсолютно протилежну імуногістохімічну картину. Було виявлено тенденцію до пригнічення експресії до естрогену та прогестерону відносно контрольних рівнів (рис. 3.3.4, табл. 3.3.2). Важливо відмітити, що окрім пригнічення рівня експресії статевих гормонів, відбулось і зниження інтенсивності ядерного забарвлення.

Разом з цим, відносно контролю, рівень позитивних клітин до ER у атрофованому люмінальному та залозистому епітелії знизився ($p < 0,05$) (слабше забарвлення з меншою часткою забарвлених клітин) в обох експериментальних серіях. Схожі зміни виявлялись і у клітинах стромы ендометрію та субмукозному шарі міометрію ($p < 0,05$). При цьому, експресія ER у поздовжньому шарі матки щурів VM(90) серії була достовірно ($p < 0,05$) нижчою ніж у VM+E(90).

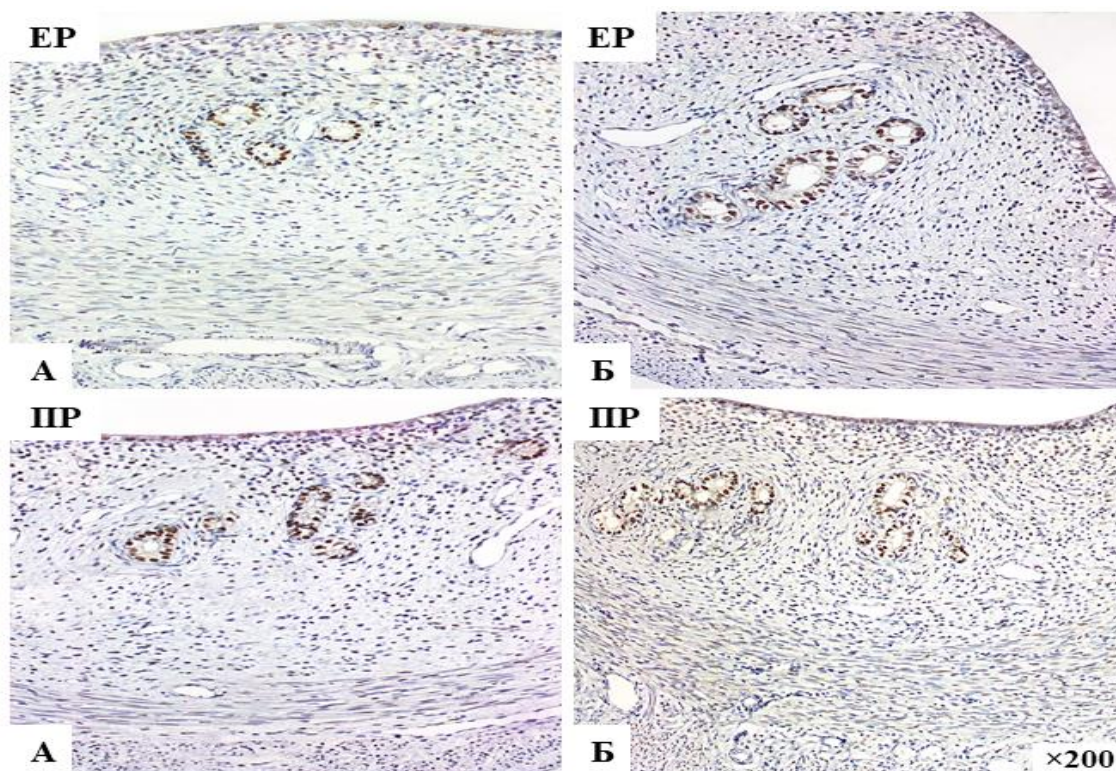


Рис. 3.3.4. Стінка матки щурів VM(90) (А) та VM+E(90) (Б) серій. Імуногістохімічне дослідження експресії EP та MP. Хромоген – діамінобензидин. Ядра додатково забарвлені гематоксиліном Майєра. Збільшення $\times 200$.

Таблиця 3.3.2.

Рівні експресії EP і MP в матці щурів серій VM(90) та VM+E(90).

	Ендометрій				Міометрій			
	Епітелій		Строма		Циркулярний шар		Поздовжній шар	
	EP	MP	EP	MP	EP	MP	EP	MP
Кнтр	+++	+++	++	++	++	++	++	++
VM(90)	+*	++*	+**	+*	+*	++	+*	++
VM+E(90)	++*	+++ [#]	+*	+*	+*	++	++ [#]	++

Примітка: достовірна різниця між групами, * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; # $p < 0,05$. * – порівняно з Кнтр серією; # – порівняно з VM(90) серією.

У той же час, у щурів ВМ(90) та ВМ+Е(90) серій реакція внутрішньоядерного забарвлення до ПР була схожою з ЕР та демонструвала варіацію як патерну, так і інтенсивності. Більш виразне зменшення ($p < 0,05$) чутливості до прогестерону було виявлено саме у епітеліальному компартменті матки щурів ВМ(90) серії, одночасно відносно Кнтр та ВМ+Е(90) серій. При цьому, різниці між показниками двох останніх серій виявлено не було ($p > 0,05$). У той же час, вогнищеве або гетерогенне позитивне забарвлення на ПР стінки матки допомогло встановити відповідне ($p < 0,05$) пригнічення рецепторної активності у стромальних клітинах двох експериментальних серій. Важливо відмітити, що на відміну від експресії ЕР, у міометрії гризунів щурів ВМ(90) та ВМ+Е(90) серій порушення генерації ПР не спостерігалось.

На противагу вищесказаному, у тварин групи відновлення спостерігалась виражена тенденція до стабілізації окремих показників гормональної чутливості відносно контрольних рівнів, однак їх достовірність та інтенсивність відновлення їх експресії значно коливались між серіями ВМ(90)+90відн, ВМ(90)+90відн(Е) та ВМ+Е(90)+90відн(Е) у залежності від їх заданого сценарію дослідження (рис. 3.3.5, табл. 3.3.3). Дисбаланс експресії ЕР та ПР відзначався у ендометрії та міометрії, а показники їх генерації все ще поступалась контрольним значенням.

При вивченні особливостей продукції білків теплового шоку у стінці матки контрольних тварин було виявлено певну варіабельність їх експресії. Так, при ідентифікації Hsp90 α було відмічено вогнища слабо позитивної цитоплазматичної та інколи ядерної реакції у просвітньому та залозистому епітелії ендометрію (рис. 3.3.6).

У той же час, на 30-ту добу впливу ВМ було виявлено дисбаланс експресії стресових білків теплового шоку в ендометрії самиць щурів серій ВМ(30) та ВМ+Е(30) (рис. 3.3.7). Так, у епітелії матки зустрічалось значне – збільшення (дифузна сильнопозитивна реакція; $F = 28,03$, $p < 0,001$) продукції шаперонових білків, порівняно з контролем.

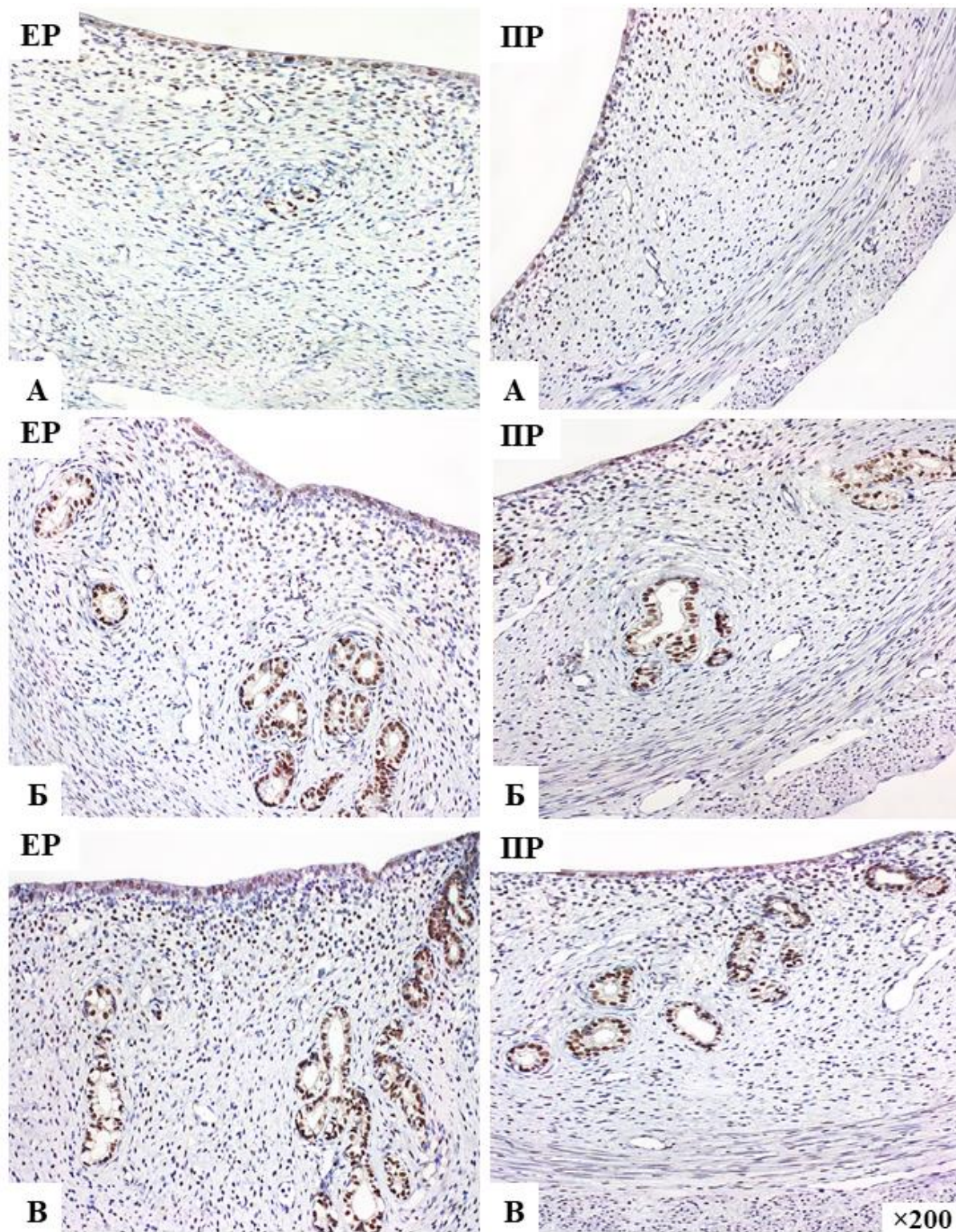


Рис. 3.3.5. Стінка матки щурів ВМ(90)+90відн (А), ВМ(90)+90відн(Е) (Б) та ВМ+Е(90)+90відн(Е) серій. Імуногістохімічне дослідження експресії ЕР та ПР. Хромоген – діамінобензидин. Ядра додатково забарвлені гематоксиліном Майєра. Збільшення $\times 200$.

Таблиця 3.3.3.

Рівні експресії ЕР і ПР в матці щурів на 180-ту добу експерименту.

	Ендометрій				Міометрій			
	Епітелій		Строма		Циркулярний шар		Поздовжній шар	
	ЕР	ПР	ЕР	ПР	ЕР	ПР	ЕР	ПР
Кнтр	+++	+++	++	++	++	++	++	++
ВМ(90)+90відн	++* [^] #	+++	+* [^] #	+* [^] #	+* [^] #	++	+*	++
ВМ(90)+90відн(Е)	+++	+++	+* [#]	++	+* [#]	++	++	++
ВМ+Е(90)+90відн(Е)	+++	+++	+*	++	++	++	++	++

Примітка: достовірна різниця між групами, * $p < 0,05$; # $p < 0,05$; [^] $p < 0,05$. * – порівняно з Кнтр серією; [^] – порівняно з серією ВМ(90)+90відн; # – порівняно з серією ВМ+Е(90)+90відн(Е).

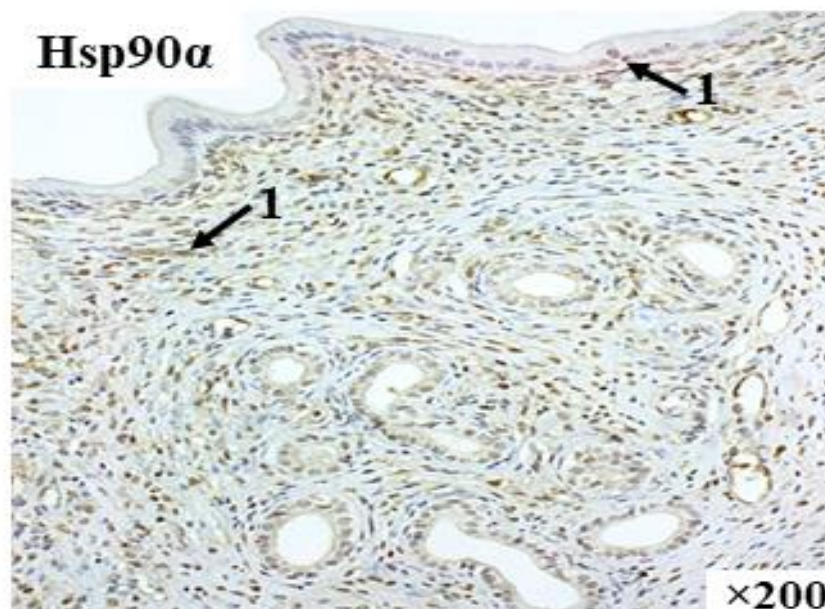
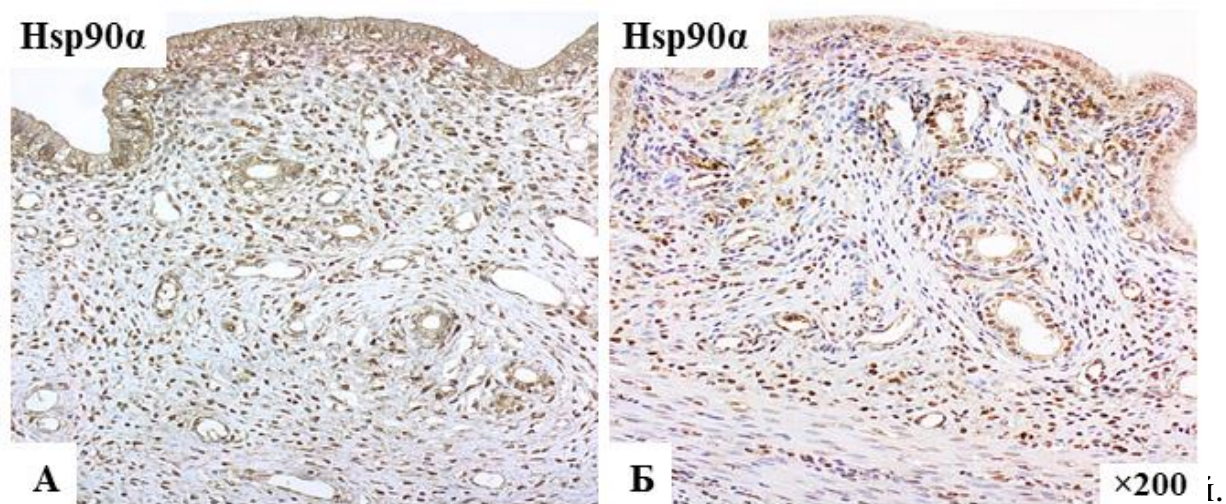


Рис. 3.3.6. Стінка матки щура Кнтр групи. Імуногістохімічне дослідження експресії Hsp90α. Позначення: 1 – позитивна експресія. Хромоген – діамінобензидин. Ядра додатково забарвлені гематоксилином Майєра. Збільшення ×200.

Виражена гетерогенна експресія Hsp90 α локалізувалась майже впродовж усього епітеліального покриття матки та залоз різної глибини. Однак, інтенсивність продукції шаперонів у залозистому епітелії була нижчою ніж у люмінальних клітинах. Вогнищево виявлялись позитивно забарвлені клітини (з ядерною локалізацією) серед власної пластинки ендометрію та міометрію. Було виявлено відсутність різниці синтезу шаперонів між експериментальними серіями ($t = 1,08$; $p > 0,05$). Важливо, що окрім збільшення інтенсивності забарвлення та кількості імунореактивних клітин, відбулись і варіації патерну експресії. Так, позитивне забарвлення ядра значно переважало цитоплазматичним сигналом.



Імуногістохімічне дослідження експресії Hsp90 α . Хромоген – діамінобензидин. Ядра додатково забарвлені гематоксиліном Майєра. Збільшення $\times 200$.

При пролонгації ж експерименту спостерігалось наростання ($p < 0,05$) різниці продукції стресових білків між серіями VM(90) та VM+E(90) (рис. 3.3.8). Так, для тварин серії VM(90) зберігалась сильно виражена реакція шаперонів ($t = 8,04$; $p < 0,0001$). Патерни імунного забарвлення Hsp90 α , також були виражені в ендометріальних залозистих, стромальних та міометріальних клітинах (незначна кількість), однак з нижчою інтенсивністю імунного забарвлення порівняно з покривним епітелієм.

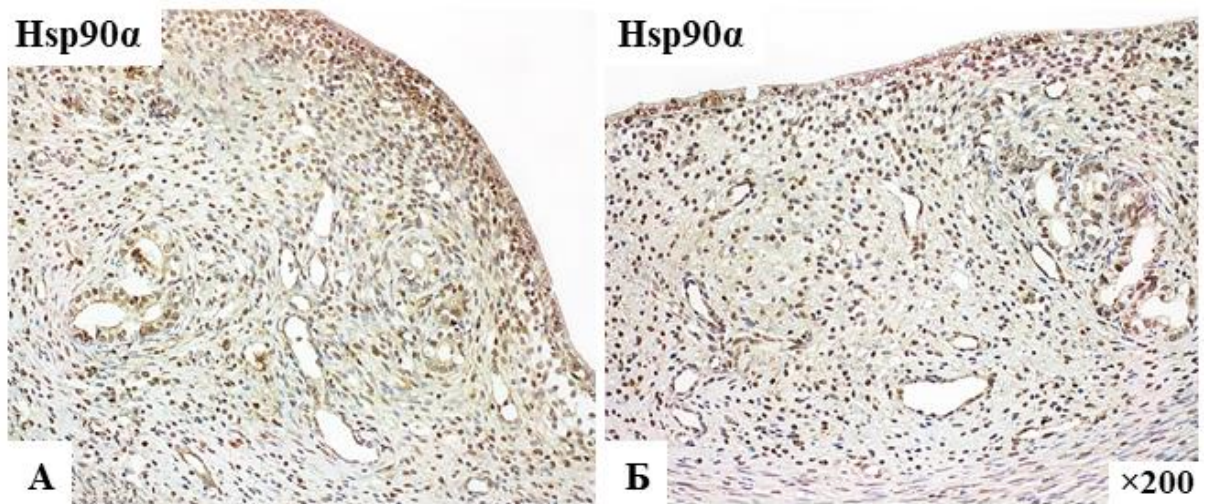


Рис. 3.3.8. Стінка матки щура VM(90) (А) та VM+E(90) (Б) серій. Імуногістохімічне дослідження експресії Hsp90α. Хромоген – діамінобензидин. Ядра додатково забарвлені гематоксилином Майєра. Збільшення $\times 200$.

На противагу цьому ($t = 2,6$; $p = 0,02$), у тварин, яким дію VM поєднували з вітаміном E, була виявлена лише помірна ($t = 4,11$; $p < 0,01$) інтенсивність експресії білків теплового шоку. Важливо, що у цей період відбулась зміна цитоплазматично-ядерного розподілу генерації білків теплового шоку з значним переважанням останнього патерну.

У період відновлення було відмічено тенденцію до зниження інтенсивності та варіабільності цитоплазматичної та ядерної експресії шаперонових стресових білків в матці тварин VM(90)+90відн, VM(90)+90відн(E) та VM+E(90)+90відн(E) серій, однак прояви та швидкість стабілізації синтезу даних білків відрізнялась між серіями (рис. 3.3.9).

Зниження кількості експресованих клітин у епітелії, поодиноких клітин строми та міометрію, а також інтенсивності їх забарвлення коливалась вогнищами від слабовираженої до помірновираженої імунореактивності. Оцінка імуногістохімічної реакції відносно контролю була наступною: серія VM(90)+90відн – сильновиражена реакція ($t = 6,18$; $p < 0,001$); серія VM(90)+90відн(E) – помірновиражена реакції ($t = 1,83$; $p < 0,05$) серія та VM+E(90)+90відн(E) серій – від слабо- до помірновираженої реакції ($t = 1,18$;

$p > 0,05$). Цитоплазматичний сигнал у ендометрії щурів серії 9-ть та 10-ть переважав над ядерним, у той час як у серії 8-м більшість позитивно забарвлених клітин мала ядерне переважання патерну експресії.

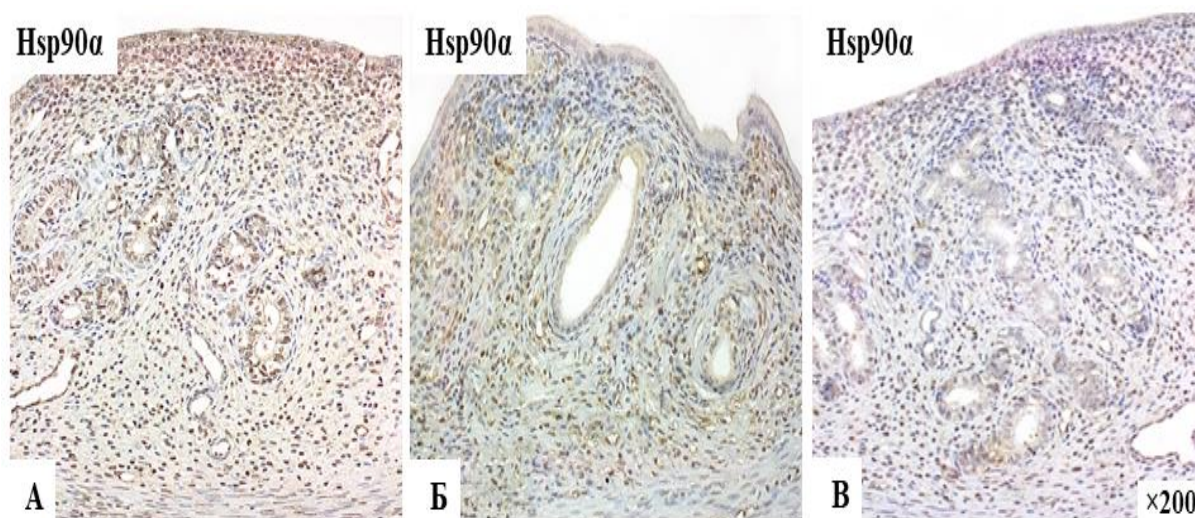


Рис. 3.3.9. Стінка матки щура VM(90)+90відн (А), VM(90)+90відн(Е) (Б) та VM+E(90)+90відн(Е) (В) серій. Імуногістохімічне дослідження експресії Hsp90α. Хромоген – діамінобензидин. Ядра додатково забарвлені гематоксилином Майєра. Збільшення $\times 200$.

Імуногістохімічне та імунофлуоресцентне дослідження активності та рецепторного розташування МКА-PEA1 у стінці матки щурів контрольних серій допомогло встановити помірну позитивну експресію на апікальній клітинній полярності поверхневих високих циліндричних клітин уздовж усього просвіту нормального ендометрію у вигляді безперервного ланцюга. Було виявлено лише слабку вогнищеву експресію МКА-PEA1 поверх епітеліоцитів окремих залоз. Більш того, поодинокі лейкоцити, дифузно розсіяні у власні пластинці ендометрію, були також МКА-PEA1-позитивними, і, таким чином, слугували внутрішнім контролем (рис. 3.3.10).

Цікаво, що експресія МКА-PEA1 поверх люмінальних епітеліоцитів ендометрію щурів серій VM(30) та VM+E(30) характеризувалась сильно вираженим ($t = 4,94$ та $t = 5,69$; $p < 0,001$) посиленням сигналу (рис. 3.3.11).

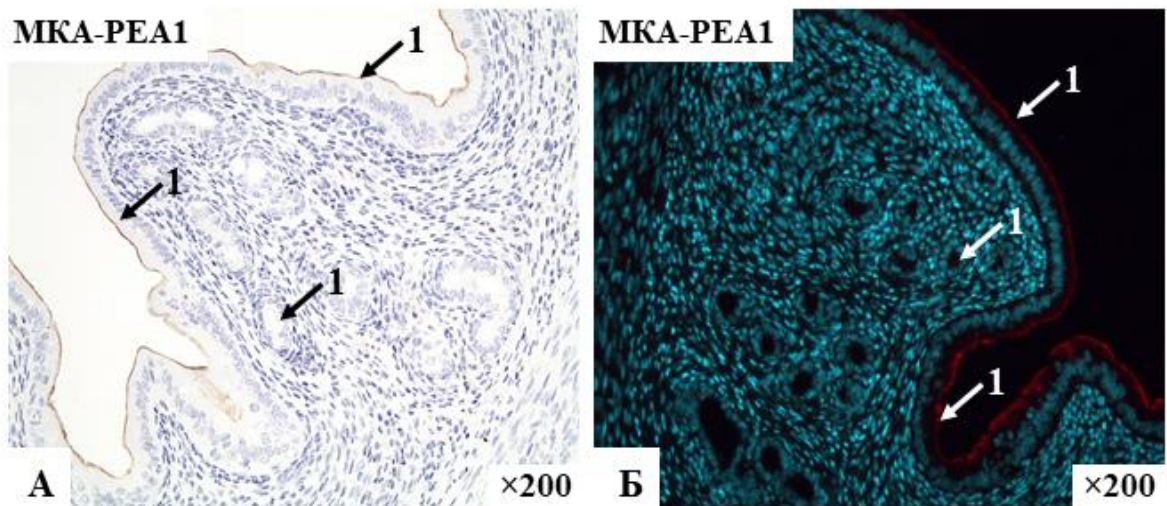


Рис. 3.3.10. Стінка матки щура Кнтр групи. Імуногістохімічне дослідження експресії МКА-РЕА1. Позначення: 1 – позитивна експресія. А – діамінобензидин та гематоксилін Майєра; Б – Стрептавідин та DAPI. Збільшення $\times 200$.

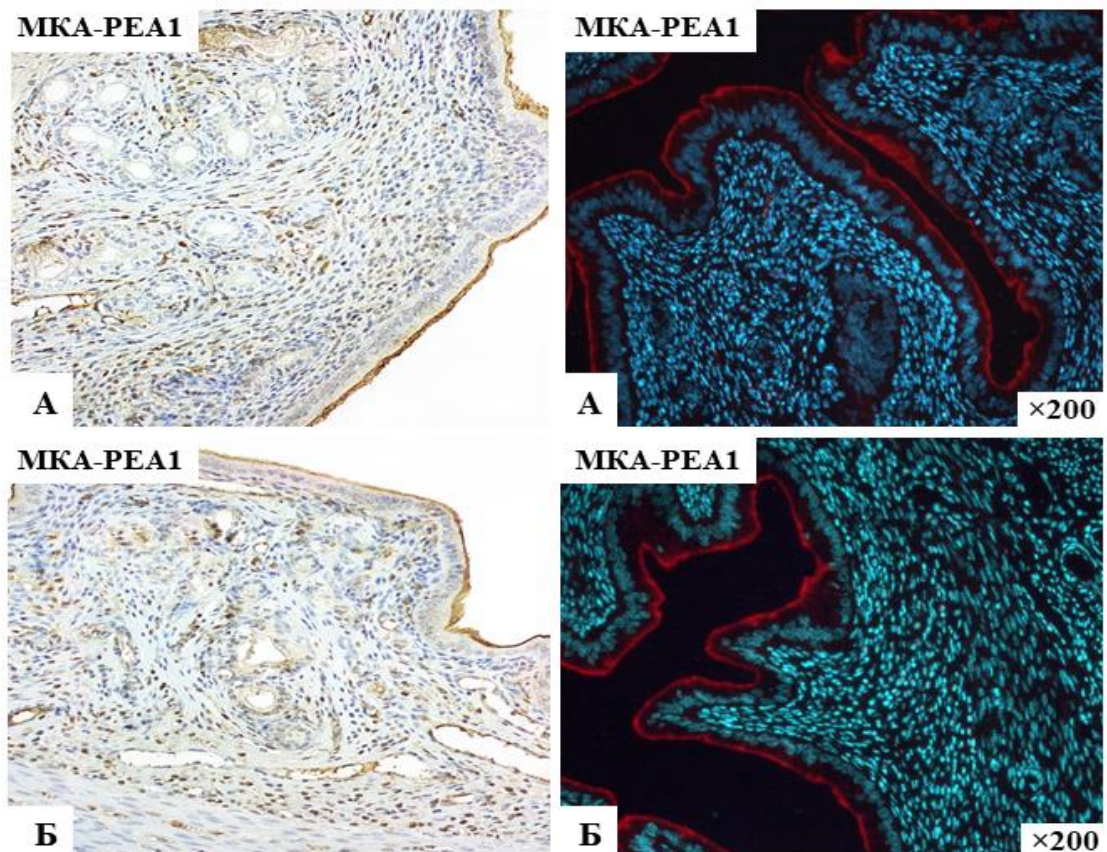


Рис. 3.3.11. Стінка матки щура VM(30) (А) та VM+E(30) (Б) серій. Імуногістохімічне дослідження експресії МКА-РЕА1. Ліворуч – Діамінобензидин та гематоксилін Майєра; праворуч – Стрептавідин та DAPI. Збільшення $\times 200$.

При цьому, експресія білків у залозах зустрічалась вкрай рідко. Увагу привертала інтенсифікація змішаноклітинної запальної інфільтрації, де рівень позитивно забарвлених лейкоцитів значно зріс в обох групах.

Кардинально протилежну поведінку експресії МКА-РЕА1 було ідентифіковано на 90-ту добу експерименту. Так, поверх епітелію матки тварин ВМ(90) ($t = 5,76$; $p < 0,0001$) та ВМ+E(90) ($t = 4,08$; $p < 0,001$) серій спостерігалась слабопозитивна (місцями негативна) імунореактивність МКА-РЕА1 на апікальній поверхні епітеліоцитів (рис. 3.3.12).

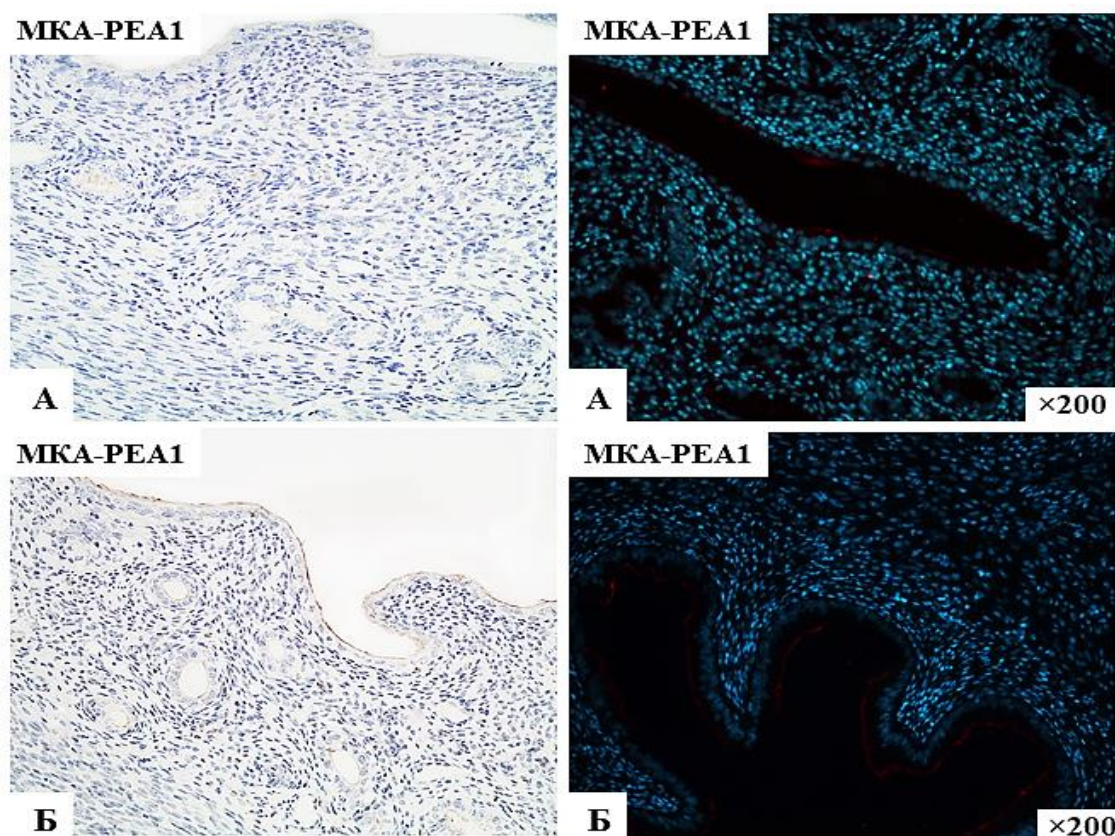


Рис. 3.3.12. Стінка матки щура ВМ(90) (А) та ВМ+E(90) (Б) серій. Імуногістохімічне дослідження експресії МКА-РЕА1. Ліворуч – Діамінобензидин та гематоксилін Майєра; праворуч – Стрептавідин та DAPI. Збільшення $\times 200$.

Варто відмітити, що інколи візуалізувалися ділянки (зазвичай у атрофованому кубовидному або сплюснутому епітелії), де експресія білків була повністю відсутня. При цьому, відмічалась слабка експресія МКА-РЕА1 поверх «відкритих» залоз.

Епітелій залоз із деформованою формою, кістозно зміненим або ж взагалі відсутнім просвітом («склеєні») не експресував даний протеїн. Більш того, встановлено переважання рівнів експресії МКА-РЕА1 поверх люмінального та залозистого епітелію у матці тварин ВМ+Е(90) серії над серією ВМ(90) ($t = 2,44$; $p = 0,03$).

У відновний же період відмічалась певна варіабельність імунореактивності щодо рецепторів МКА-РЕА1 у матці щурів ВМ(90)+90відн, ВМ(90)+90відн(Е) та ВМ+Е(90)+90відн(Е) серій (рис. 3.3.13).

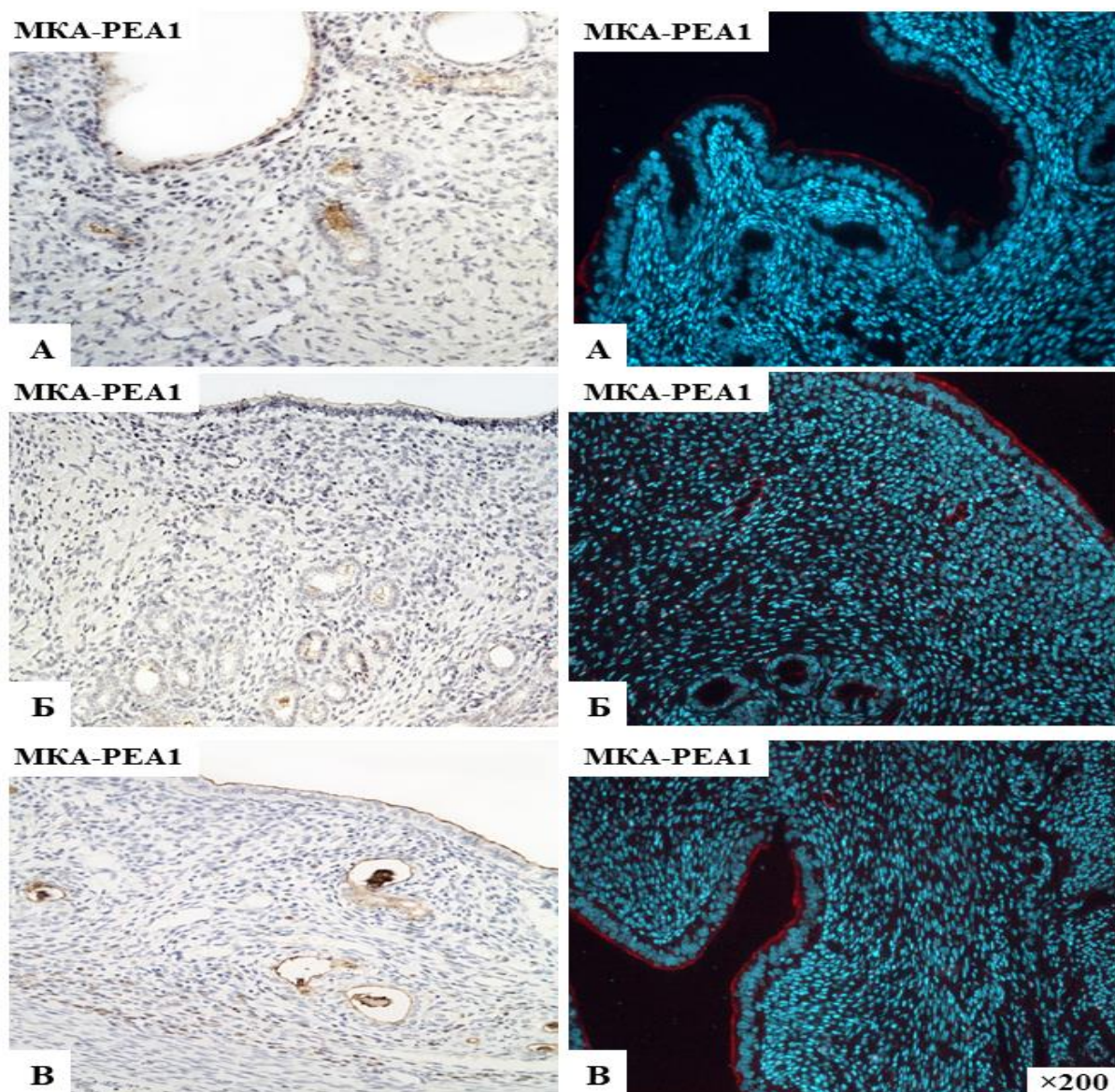


Рис. 3.3.13. Стінка матки щура ВМ(90)+90відн (А), ВМ(90)+90відн(Е) (Б) та ВМ+Е(90)+90відн(Е) (В) серій. Імуногістохімічне дослідження експресії МКА-РЕА1. Ліворуч – діамінобензидин та гематоксилін Майєра; Праворуч – Стрептавідин та DAPI. Збільшення $\times 200$.

Таким чином, було ідентифіковано тенденцію до зростання інтенсивності експресії молекул клітинної адгезії на апікальній поверхні мембрани люмінального та залозистого епітелію ендометрію. При цьому, повної стабілізації показників або їх наближення до норми не спостерігалось лише у серії ВМ(90)+90відн – слабкопозитивна експресія ($t = 3,56$; $p = 0,003$). У той же час, місцями нерівномірна, однак стабільна, помірно виражена експресія МКА-РЕА1 поверх епітеліоцитів просвіту матки у серіях ВМ(90)+90відн(Е) та ВМ+Е(90)+90відн(Е) не відрізнялась від показників норми ($t = 0,51$ та $t = 0,31$; $p > 0,05$). При цьому, серед залозистого компоненту, здатність до продукції МКА-РЕА1 візуалізувалась у більшості залоз різних за діаметром та формою. При порівнянні генерації МКА-РЕА1 у матці між експериментальними серіями, було виявлено значне зростання характеру експресії даних білків у серіях зі застосуванням вітаміну Е.

У свою чергу, експресія СОД1 у матці контрольних тварин була представлена позитивним цитоплазматичним (слабовиражена імунореактивність) забарвленням у більшості епітеліальних та стромальних клітин ендометрію і поодиноких міоцитах міометрію (рис. 3.3.14). Подекуди візуалізувалося слабке ядерне забарвлення епітеліоцитів слизової оболонки.

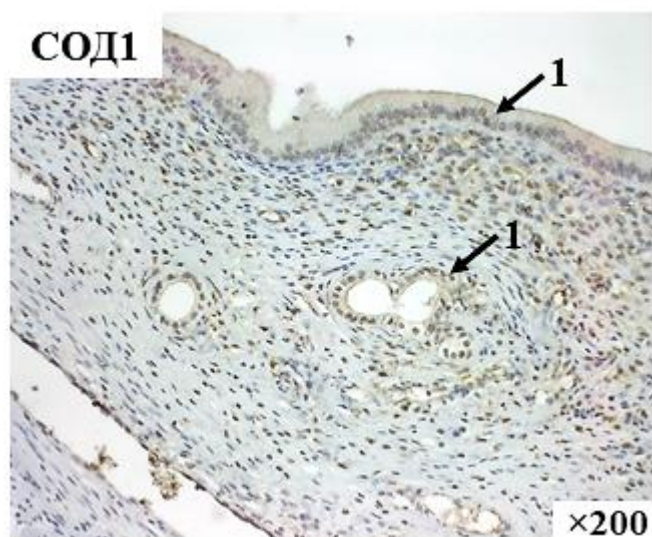


Рис. 3.3.14. Стінка матки щура Кнтр групи. Імуногістохімічне дослідження експресії СОД1. Хромоген – діамінобензидин. Ядра додатково забарвлені гематоксиліном Майєра. Збільшення $\times 200$.

За умов експериментального впливу суміші ВМ упродовж 30-ти днів, відбулось достовірне ($p < 0,01$) зростання рівнів та інтенсивності експресії білків СОД1 в стінці матки щурів ВМ(30) та ВМ+E(30) серій (рис. 3.3.15). При цьому, переважання над контрольними показники спостерігалось одночасно у двох експериментальних серіях та досягало найвищих показників.

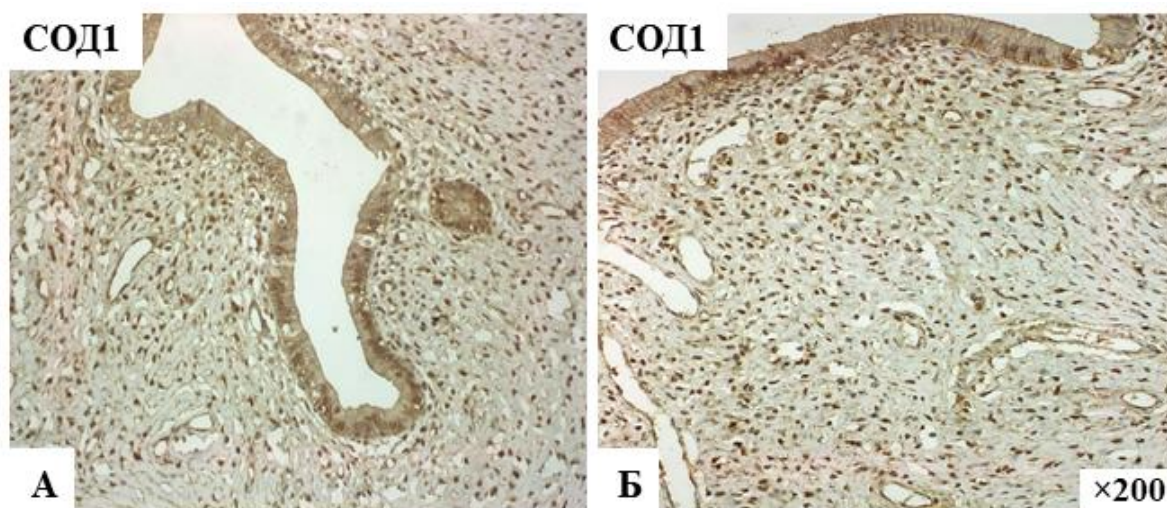


Рис. 3.3.15. Стінка матки щура ВМ(30) (А) та ВМ+E(30) (Б) серій. Імуногістохімічне дослідження експресії СОД1. Хромоген – діамінобензидин. Ядра додатково забарвлені гематоксиліном Майєра. Збільшення $\times 200$.

Пролонгація експерименту до 90-то діб також супроводжувалась порушенням рівнів генерації СОД1 у структурних компонентах матки щурів (рис. 3.3.16). У тварини ВМ(90) серії було виявлено виражене зниження (слабке забарвлення з недостатньою кількістю забарвлених клітин) рівнів експресії СОД1 у структурних компонентах матки. Так, експресія СОД1 у слизовій оболонці коливалась на низькому рівні з незначним переважанням імунореактивних клітин саме у стромальному компартменті над епітеліальним. Крім того, інтенсивність експресії СОД1 у стінці матки щурів без коректора була значно нижчою ($p < 0,01$), ніж у тварин серії ВМ+E(90).

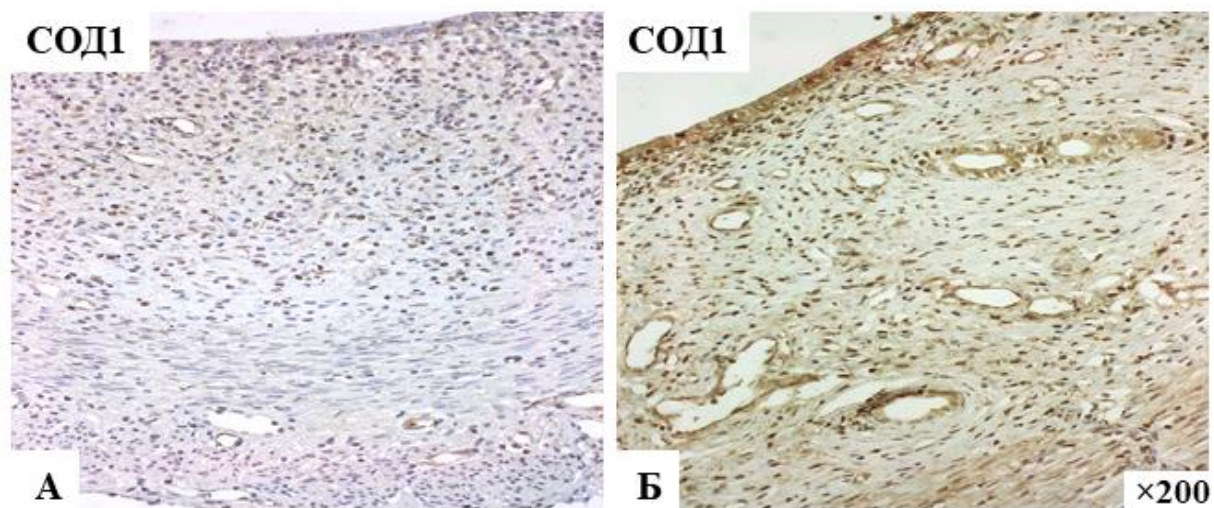


Рис. 3.3.16. Стінка матки щура VM(90) та VM+E(90) серій. Імуногістохімічне дослідження експресії СОД1. Хромоген – діамінобензидин. Ядра додатково забарвлені гематоксилином Майєра. Збільшення $\times 200$.

Рівні експресії СОД1 у стінці матки щурів продовжували змінюватися і у період відновлення, а тенденція до стабілізації показників залежала від експериментальної моделі (рис. 3.3.17).

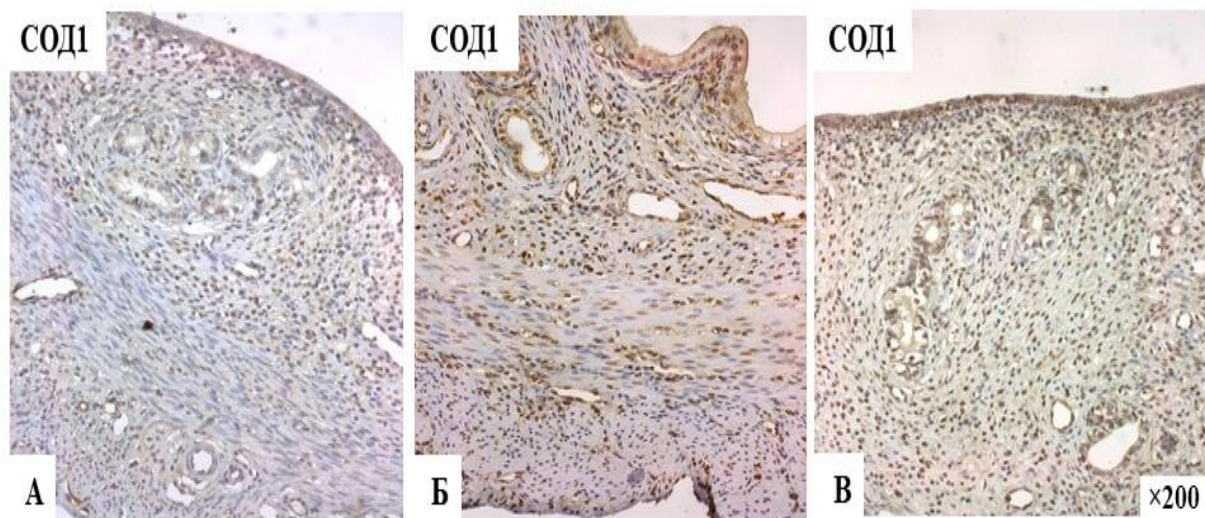


Рис. 3.3.17. Стінка матки щура VM(90)+90відн, VM(90)+90відн(E) та VM+E(90)+90відн(E) серій. Імуногістохімічне дослідження експресії СОД1. Хромоген – діамінобензидин. Ядра додатково забарвлені гематоксилином Майєра. Збільшення $\times 200$.

Так, у тварин серії ВМ(90)+90відн відмічалася слабо виражена експресії СОД1. У той же час, рівні генерації даних білків значно зросли відносно серії ВМ(90)+90відн ($p < 0,05$) та набули рівня помірно вираженої імунореактивності у серіях ВМ(90)+90відн(Е) та ВМ+Е(90)+90відн(Е) на 180-ту добу експерименту ($p < 0,05$). При цьому, показники експресії СОД1 у серіях тварин з додаванням коректора достовірно ($p < 0,01$ та $p < 0,05$) переважали дані Кнтр серії. Важливо відмітити, значне зростання експресії білка саме у матці тварин, які вживали вітамін Е виключно упродовж відновного періоду та наближення їх показників до ВМ+Е(90)+90відн(Е).

Отже, з отриманих результатів випливає, що вплив ВМ на організм супроводжується дисбалансом та порушенням експресії специфічних білків у паренхіматозних та стромальних компонентах матки щурів. При цьому, напрямок змін їх експресії біомаркерів підібраної діагностичної панелі до ЕР, ПР, Нsp90 α , МКА-РЕА1 та СОД1 залежить від тривалості експерименту та додаткового застосування вітаміну Е.

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. **Sikora K**, Lyndin M, Hyriavenko N, Lyndina Yu, Sikora V, Romaniuk A. Morphological features of the rat uterus. Pol Merkur Lekarski. 2021;XLIX(294):420–5.

2. **Sikora K**, Lyndina Y, Hyriavenko N, Awuah AW, Abdul-Rahman T, Lyndin M, Sikora V, Romaniuk A. Heavy metals effect on estrogen and progesterone receptors expression in the rat uterus. Azerbaijan medical journal. 2022;4:164–9. DOI: 10.34921/amj.2022.4.026.

3. **Sikora K**, Lyndin M, Kravtsova O, Sikora V, Romaniuk A, Singer BB. CEACAM1 expression in the normal uterus of rats. 32nd European Congress of Pathology; 05–09 December 2020; Berlin, Germany: Springer. Virchows Archiv: 2020;447(Suppl 1):S72.

4. **Sikora K**. The heavy metals impact on the heat shock proteins production in the rats endometrium. 7th Lublin International Medical Congress for Students

and Young Doctors; 26–28 November 2020; Lublin, Poland. Lublin: Student's Scientific Society of the Medical University of Lublin; 2020. p. 215.

5. **Sikora K**, Lyndin M, Moskalenko R, Kuzenko Y, Romaniuk A. Heavy metals exposure decrease the progesterone expression in the rat myometrium. 33rd European Congress of Pathology; 29-31 August 2021; Berlin, Germany: Springer. Virchows Archiv: 2021;479(Suppl 1):S125.

6. **Sikora K**, Lyndin M, Moskalenko R, Lyndina Y, Hyriavenko N, Awuah WA, Sikora V, Romaniuk A. Vitamin E reduces the suppression of estrogen receptors in the rat endometrium caused by exposure to heavy metals. 34th European Congress of Pathology; 03–07 September 2022; Berlin, Germany: Springer. Virchows Archiv: 2022;481(Suppl 1):S268.

7. **Сікора КО**, Линдін МС, Сікора ВВ, Романюк АМ. Тривалий вплив важких металів супроводжується пригніченням експресії супероксиддисмутази-1 в матці щурів. VII Міжнародна науково-практична конференція з міжнародною участю «Проблеми, досягнення та перспективи розвитку медико-біологічних і спортивних наук»; 29 жовтня 2022 р.; м. Миколаїв, Україна. Миколаїв : Поліграфічне підприємство СПД Румянцева Г.В.; 2022. с. 7–8.

3.4. Особливості вмісту хімічних елементів у тканині матки щурів за умов впливу ВМ.

Важливим етапом дослідження стало визначення розподілу та мінливості вмісту хімічних елементів у зразках матки щурів за допомогою атомно-абсорбційної спектрофотометрії (Додаток В). Для формування загального уявлення про наявність досліджуваних металів було встановлено середні значення їх рівнів у тварин серій Кнтр (1-ої, 4-ої та 7-ої) кожної групи (1-ої, 2-ої та 3-ої), що у свою чергу, слугувало підґрунтям для подальших порівняльних досліджень (табл. 3.4.1).

Таблиця 3.4.1.

Показники вмісту ВМ у матці щурів Кнтр серій на 30-ту, 90-ту та 180-ту доби (n = 24).

	Fe	Zn	Cu	Mn	Cr	Pb
<i>Група 1 Серія 1 30 доба</i>	86,07 ± 4,83	38,44 ± 2,04	4,84 ± 0,17	2,43 ± 0,11	0,908 ± 0,009	0,144 ± 0,005
<i>Група 2 Серія 4 90 доба</i>	87,61 ± 4,38	37,96 ± 2,45	4,83 ± 0,15	2,39 ± 0,15	0,914 ± 0,01	0,143 ± 0,006
<i>Група 2 Серія 7 180 доба</i>	85,62 ± 5,35	35,63 ± 3,04	4,87 ± 0,17	2,44 ± 0,09	0,912 ± 0,008	0,143 ± 0,004

Примітка: Хімічні елементи впорядковані від більших концентраційних показників до менших та представлені у мкг/г як $M \pm SD$.

Важливо відмітити, що хоча цифрові показники хімічних елементів дещо коливалися (у середньому $132,09 \pm 6,22$ мкг/г) з пролонгацією експерименту (на 30-ту, 90-ту та 180-ту доби), статистичної достовірності між даними не спостерігалось ($p > 0,05$), що свідчить про стабільність їх концентрацій у матці щурів упродовж їх життєвого циклу. При цьому, було встановлено, що кількісний вміст ВМ значно відрізнявся один від одного та був представлений у наступному порядку – Fe > Zn > Cu > Mn > Cr > Pb (від найбільшого до найменшого).

Так, рівні заліза коливалися від 78,38 мкг/г до 93,91 мкг/г, цинку – від 30,73 мкг/г до 41,89 мкг/г, міді – від 4,52 мкг/г до 5,06 мкг/г, марганцю – від 2,18 мкг/г до 2,61 мкг/г, хрому – від 0,892 мкг/г до 0,924 мкг/г, свинцю – від 0,135 мкг/г до 0,152 мкг/г у тварин контрольних серій (n = 24). Сумарні ж показники досліджуваних металів-мікроелементів склали у середньому $132,83 \pm 5,69$ мкг/г (від 125,1 мкг/г до 139,41 мкг/г), $133,83 \pm 5,5$ мкг/г (від 125,4 мкг/г до 142,38 мкг/г) та $129,61 \pm 7,31$ мкг/г (від 120,5 мкг/г до 140,03 мкг/г) на 30-й, 90-й та 180-й день дослідження, відповідно.

При вивченні параметрів спектрального аналізу тканини матки щурів експериментальних серій ВМ(30) та ВМ+Е(30) було виявлено значний акумулятивний дисбаланс вмісту ВМ. Отримані дані оцінювали як в кількісному діапазоні, так і як відсоткове зростання у порівнянні з контрольною серією. Встановлено, що на тлі 30-ти денного вживання суміші СВМ у тварин серії ВМ(30) відбулось стрімке зростання середніх показників вмісту хімічних елементів у стінці органа (рис. 3.4.1).

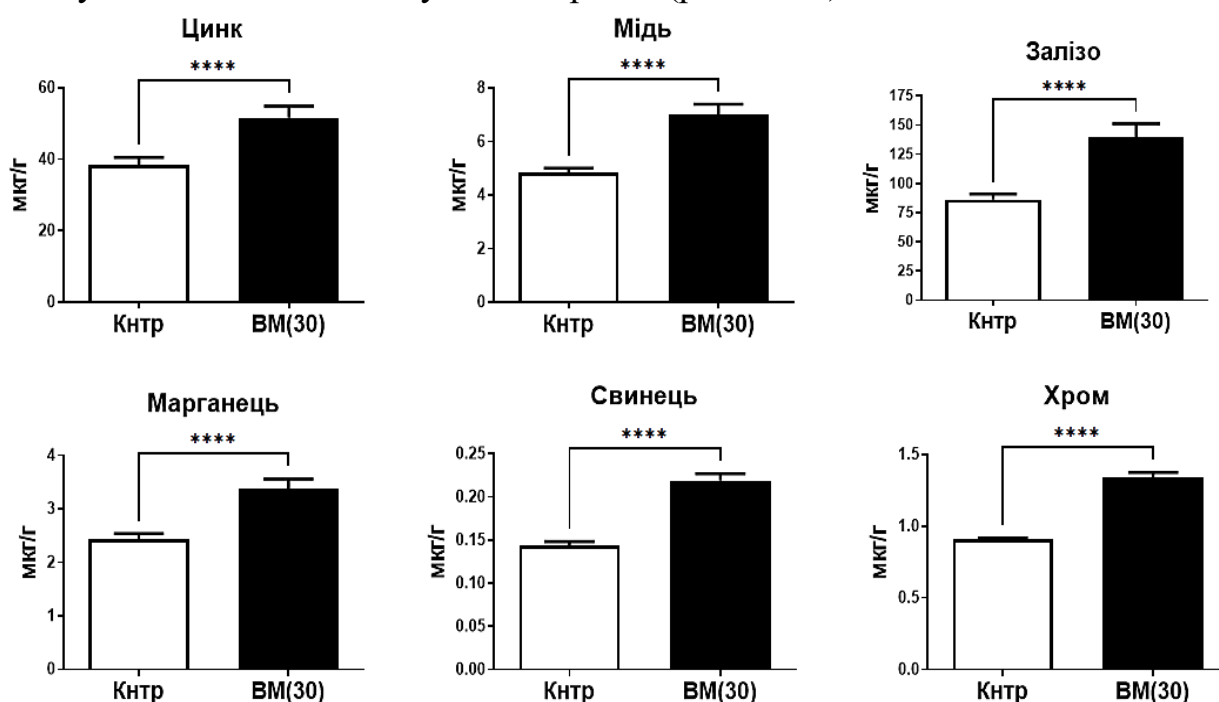


Рис. 3.4.1. Показники ВМ у тканині матки щурів серії ВМ(30) в порівнянні з Кнтр. Дані представлені як $M \pm SD$ (Бари – стиль Т із верхнім напрямком). Показники аналізували за допомогою t-критерію Стьюдента. Рівні значущості: **** $p < 0,0001$.

Так, кількість цинку у середньому зросла на 34,11 % ($51,55 \pm 3,32$ мкг/г; $t = 9,52$, $p < 0,0001$), міді – на 44,83 % ($7,01 \pm 0,39$ мкг/г; $t = 14,36$, $p < 0,0001$), марганцю – на 38,68 % ($3,37 \pm 0,19$ мкг/г; $t = 12,07$, $p < 0,0001$), заліза – на 61,95 % ($139,39 \pm 11,56$ мкг/г; $t = 12,04$, $p < 0,0001$), свинцю – на 53,15 % ($0,219 \pm 0,008$ мкг/г; $t = 22,34$, $p < 0,0001$), хрому – на 47,91 % ($1,34 \pm 0,032$ мкг/г; $t = 33,66$, $p < 0,0001$). Відповідно, відсоткове зростання металів було представлене у такому порядку – Fe > Pb > Cr > Cu > Mn > Zn (від найбільшого до найменшого).

У той же час, спектральні дані поглинання атомів одержані з зразків матки серії VM+E(30) вказали на схожу тенденцію до зростання рівнів екзогенних токсикантів у стінці органа, навіть на тлі коректору (рис. 3.4.2). Більш того, схильність до акумуляції іонів VM у відсотковому зростанні була такою ж як і в серії без вітаміну E – залізо > свинець > хром > мідь > марганець > цинк (від найбільшого до найменшого). Однак, ці дані наростали з менш вираженою інтенсивністю.

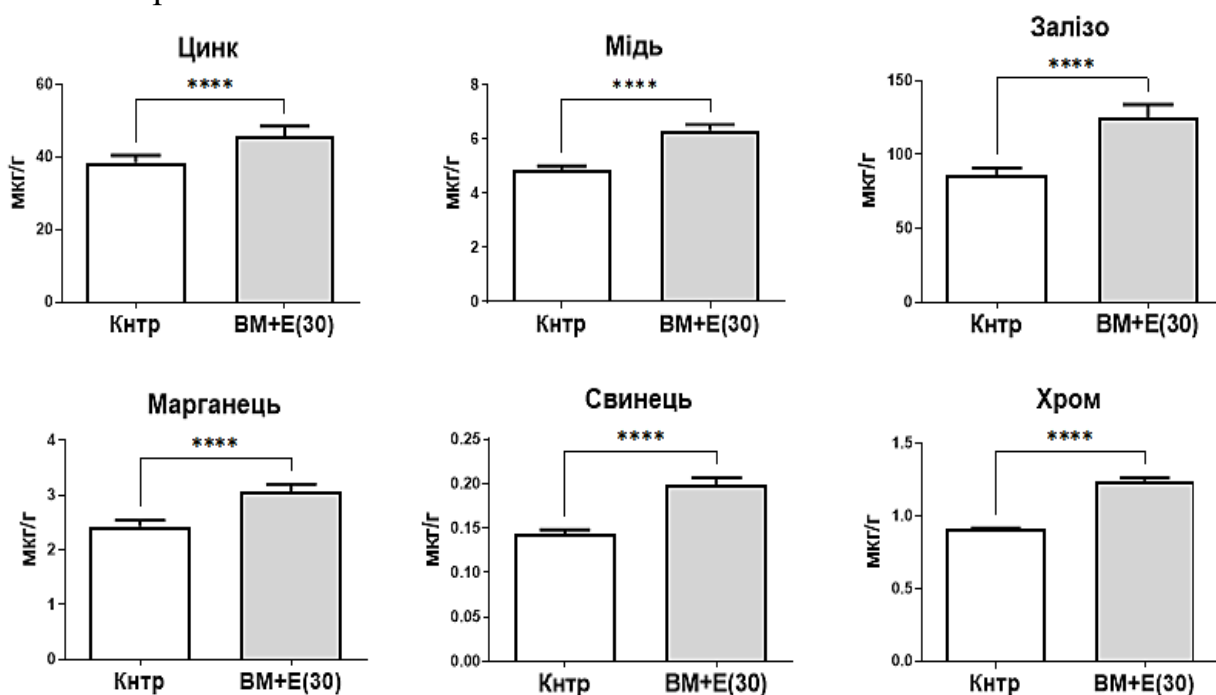


Рис. 3.4.2. Вміст VM у тканині матки щурів серії VM+E(30) в порівнянні з Кнтр. Дані представлені як $M \pm SD$ (Бари – стиль Т із верхнім напрямком). Показники аналізували за допомогою t-критерію Стьюдента. Рівні значущості: **** $p < 0,0001$.

Базуючись на цьому, отримані дані відповідних ВМ перевищували контрольні значення у середньому на 44,85 % ($124,67 \pm 9,29$ мкг/г; $t = 10,43$, $p < 0,0001$) > 39,16 % ($0,199 \pm 0,008$ мкг/г; $t = 17,02$, $p < 0,0001$) > 35,9 % ($1,234 \pm 0,029$ мкг/г; $t = 30,07$, $p < 0,0001$) > 30,58 % ($6,32 \pm 0,22$ мкг/г; $t = 15,3$, $p < 0,0001$) > 25,93 % ($3,06 \pm 0,14$ мкг/г; $t = 9,86$, $p < 0,0001$) > 18,44 % ($45,53 \pm 2,93$ мкг/г; $t = 5,62$, $p < 0,0001$).

Дисперсійний аналіз одразу всіх серій допоміг встановити достовірну ($p < 0,0001$) різницю між серіями ВМ(30) та ВМ+Е(30) для цинку ($F = 43,5$), для міді ($F = 128,4$), для заліза ($F = 74,84$), для марганцю ($F = 81,02$), для хрому ($F = 617,5$) та для свинцю ($F = 236,9$) (рис. 3.4.3). За умов корекції впливу СВМ вітаміном Е середні показники Fe зменшились ($p < 0,01$) на 10,56 % ($t = 3,27$), Pb – на 9,13 % ($t = 5,55$), Cr – на 8,12 % ($t = 8,49$), Cu – на 9,84 % ($t = 4,97$), Mn – на 9,2 % ($t = 4,15$), Zn – на 11,67 % ($t = 4,28$).

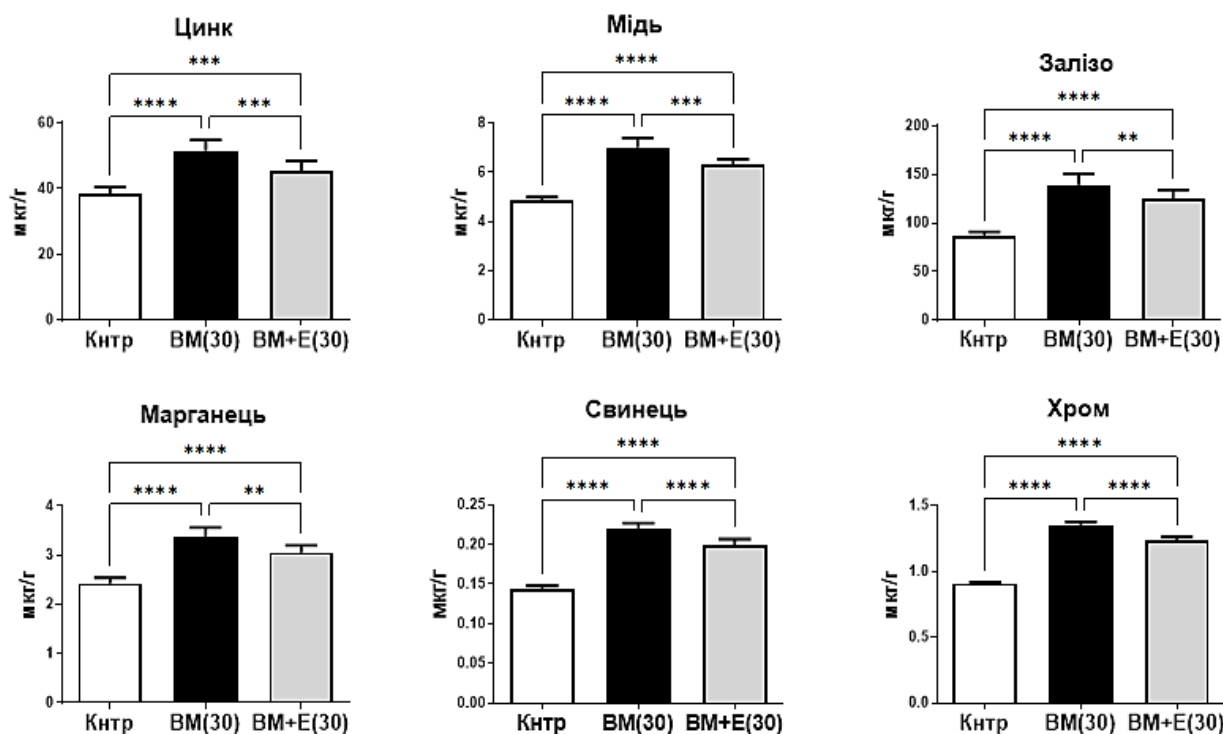


Рис. 3.4.3. Порівняння рівнів ВМ у тканині матки щурів серій ВМ(30), ВМ+Е(30) та Кнтр. Дані представлені як $M \pm SD$ (Бари – стиль Т із верхнім напрямком). Показники аналізували за допомогою однофакторного дисперсійного аналізу ANOVA з поправкою за Бонферроні. Рівні значущості: ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$; **** $p < 0,0001$.

Достовірно зростання середніх рівнів кожного окремого хімічного елементу над інтактними значеннями призвело до збільшення суми ВМ серій ВМ(30) та ВМ+E(30) на 52,74 % ($202,88 \pm 13,26$ мкг/г; $t = 13,74$, $p < 0,0001$) й на 36,27 % ($181,01 \pm 7,82$ мкг/г; $t = 14,09$, $p < 0,0001$), де показники серії з вітаміном Е були меншими на 16,47 % ($21,87$ мкг/г; $t = 4,02$, $p = 0,001$).

З пролонгацією експериментального дослідження до 90-го денного терміну у групі 2 спостерігалась виразна тенденція до наростання рівня металів. Так, спектральне вивчення хімічних елементів у тканині матки у серії ВМ(90) допомогло виявити збільшення кількості свинцю у середньому на 88,11 % ($0,269 \pm 0,009$ мкг/г; $t = 31,67$, $p < 0,0001$), заліза – на 86,26 % ($163,18 \pm 12,65$ мкг/г; $t = 15,97$, $p < 0,0001$), хрому – на 73,09 % ($1,582 \pm 0,037$ мкг/г; $t = 49,32$, $p < 0,0001$), марганцю – на 63,6 % ($3,91 \pm 0,23$ мкг/г; $t = 15,51$, $p < 0,0001$), міді – на 61,08 % ($7,78 \pm 0,35$ мкг/г; $t = 21,57$, $p < 0,0001$), цинку – на 49,34 % ($56,69 \pm 3,8$ мкг/г; $t = 11,72$, $p < 0,0001$), порівнюючи з пороговими значеннями контролю (рис. 3.4.4).

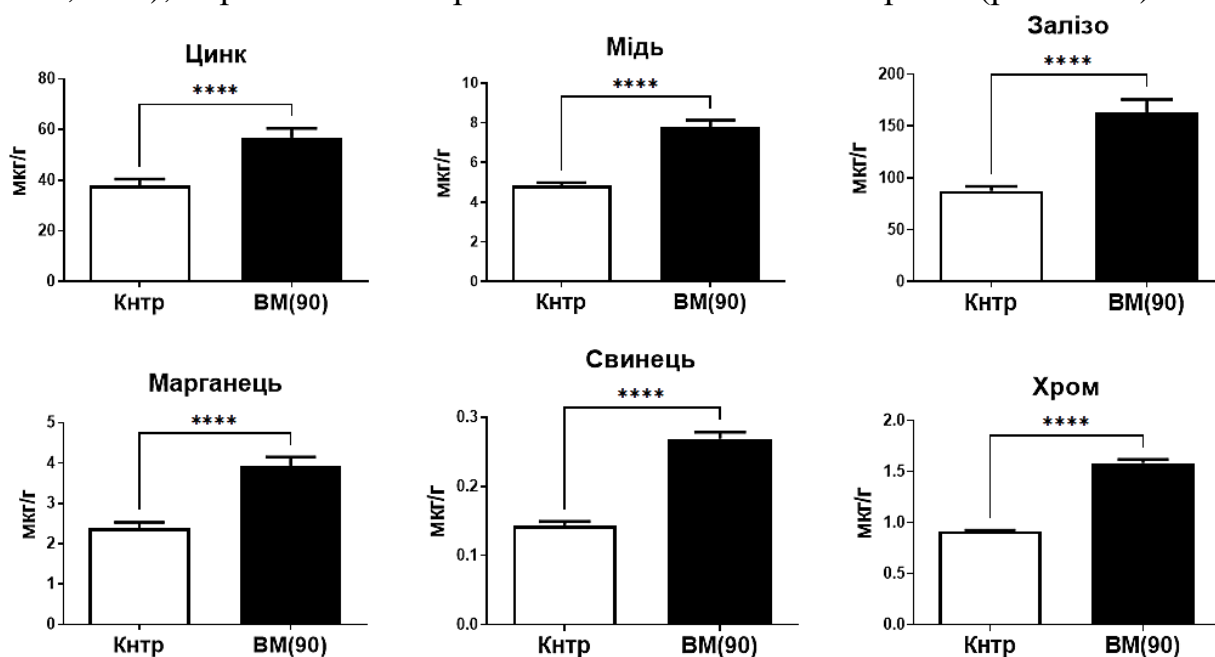


Рис. 3.4.4. Вміст ВМ у тканині матки щурів серії ВМ(90) в порівнянні з Кнтр. Дані представлені як $M \pm SD$ (Бари – стиль Т із верхнім напрямком). Показники аналізували за допомогою t-критерію Стьюдента. Рівні значущості: **** $p < 0,0001$.

Дещо відрізнялись концентраційні рівні ВМ матки гризунів серії ВМ+E(90). Хімічний аналіз показав, що рівні Pb, Fe, Cr, Cu, Mn та Zn були на 62,24 % ($0,232 \pm 0,009$ мкг/г; $t = 22,63$, $p < 0,0001$), 58,81 % ($139,13 \pm 10,37$ мкг/г; $t = 12,95$, $p < 0,0001$), 55,58 % ($1,422 \pm 0,034$ мкг/г; $t = 40,72$, $p < 0,0001$), 46,17 % ($7,06 \pm 0,21$ мкг/г; $t = 24,38$, $p < 0,0001$), 44,77 % ($3,46 \pm 0,15$ мкг/г; $t = 14,51$, $p < 0,0001$) та 29,4 % ($49,12 \pm 4,01$ мкг/г; $t = 6,72$, $p < 0,0001$) вищими за показники інтактних щурів, відповідно (рис. 3.4.5).

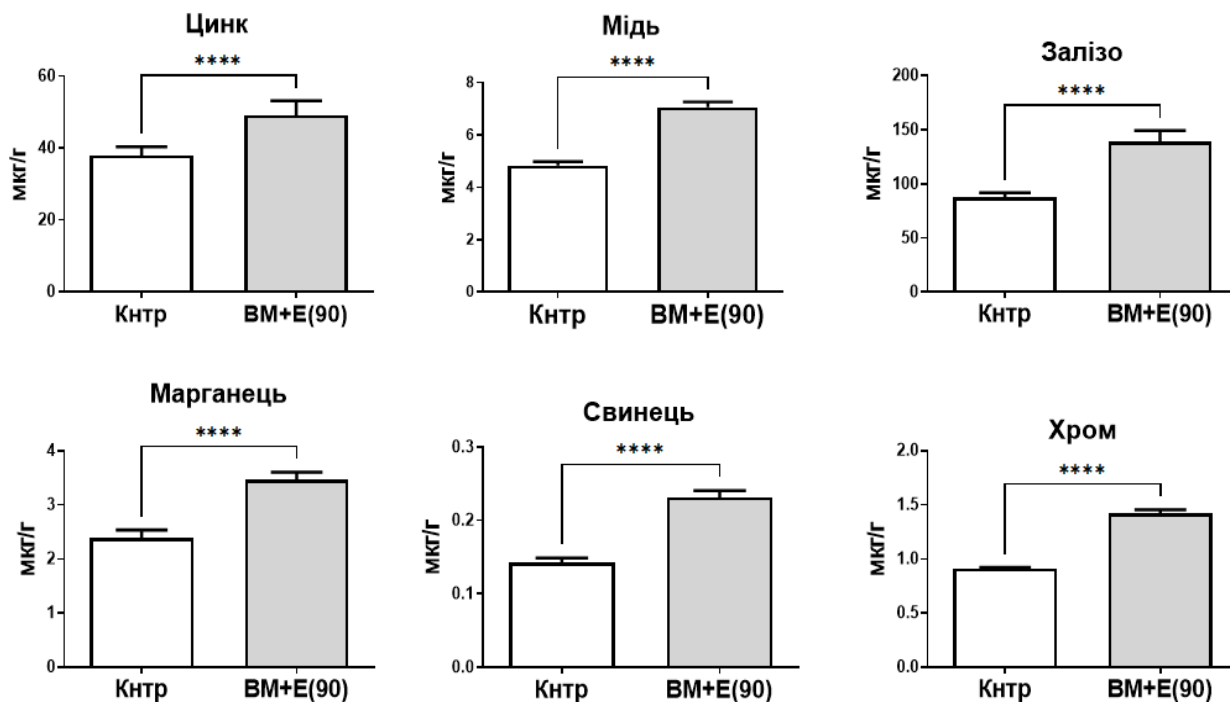


Рис. 3.4.5. Вміст ВМ у тканині матки щурів серії ВМ+E(90) в порівнянні з Кнтр. Дані представлені як $M \pm SD$ (Бари – стиль Т із верхнім напрямком). Показники аналізували за допомогою t-критерію Стьюдента. Рівні значущості: **** $p < 0,0001$.

Варто відмітити, що не дивлячись на продовження зростання концентрацій ВМ у тканині матки щурів інтенсивність їх акумуляції була не такої стрімкою в обох серіях (ВМ(90) та ВМ+E(90)). Більш того, за даних умов відбулась зміна порядку відсоткового накопичення хімічних елементів у тканині органа – $Pb > Fe > Cr > Mn > Cu > Zn$ (від найбільшого до найменшого) для серії ВМ(90) та $Pb > Fe > Cr > Cu > Mn > Zn$ (від найбільшого до найменшого) для серії ВМ+E(90).

Аналіз сумарних показників ВМ продемонстрував суттєво вищі (на 74,46 %) рівні їх накопичення у серії ВМ(90) ($233,41 \pm 8,84$ мкг/г; $t = 27,07$, $p < 0,0001$) порівняно як з контролем ($133,83 \pm 5,5$ мкг/г), так і серією ВМ+Е(90) – на 16,46 % ($200,42 \pm 9,86$ мкг/г; $t = 7,05$, $p < 0,0001$). У той же час, результат суми даних серії з вітаміном Е піднявся над межею норми на 49,81 % ($t = 16,68$, $p < 0,0001$), що було достовірно менше значень елементного аналізу тканини матки у щурів серії ВМ(90).

При однофакторному порівнянні виявлено достовірну ($p < 0,0001$) різницю збільшення вмісту ВМ у зразках експериментальних серій ВМ(90) та ВМ+Е(90) та серії Кнтр для цинку ($F = 58,36$), для міді ($F = 294,5$), для заліза ($F = 124,8$), для марганцю ($F = 149,01$), для хрому ($F = 1118,0$) та для свинцю ($F = 473,3$) (рис. 3.4.6).

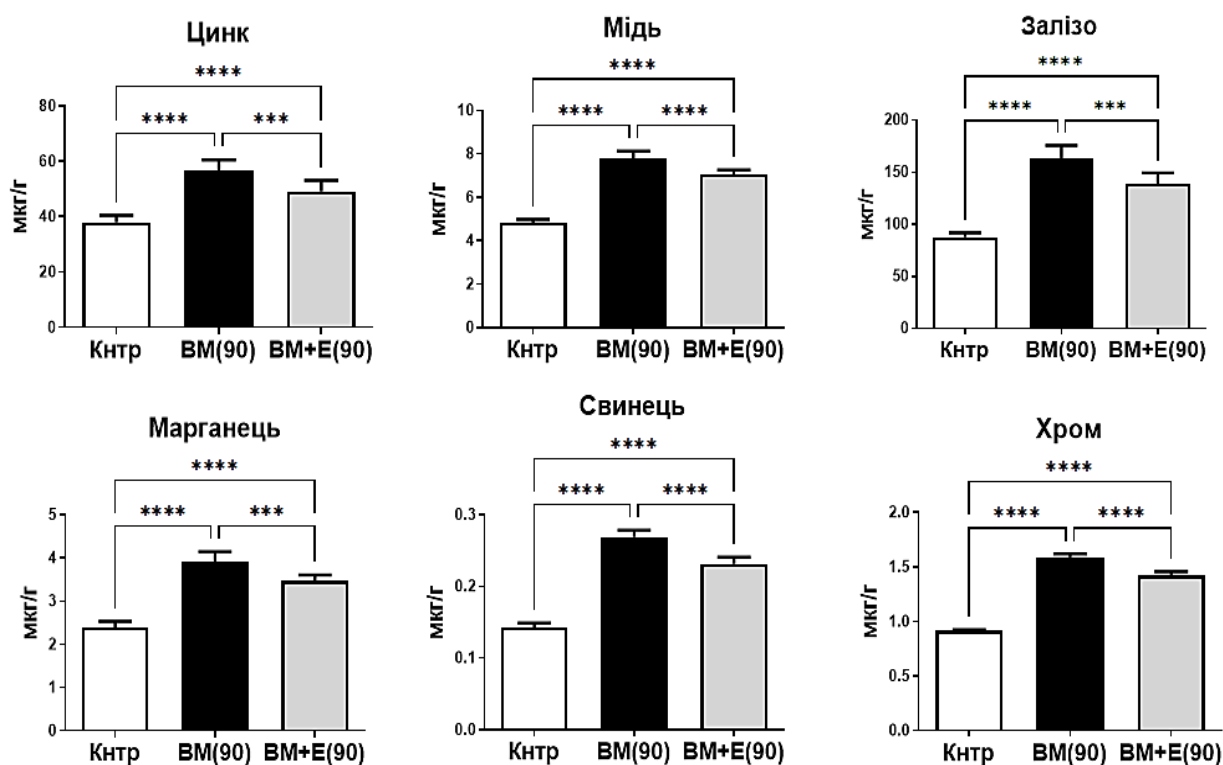


Рис. 3.4.6. Порівняння рівнів ВМ у тканині матки щурів серій ВМ(90), ВМ+Е(90) та Кнтр. Дані представлені як $M \pm SD$ (Бари – стиль Т із верхнім напрямком). Показники аналізували за допомогою однофакторного дисперсійного аналізу ANOVA з поправкою за Бонферроні. Рівні значущості: *** $p < 0,001$; **** $p < 0,0001$.

Так, концентраційний діапазон хімічних елементів у серії впливу СВМ продовж тривалого 90-денного періоду без застосування коректору перевищував параметри порівняльної серії на 15,95 % ($t = 8,94$, $p < 0,0001$) для свинцю, 17,29 % ($t = 4,92$, $p < 0,0001$) для заліза, 11,25 % ($t = 10,86$, $p < 0,0001$) для хрома, 10,2 % ($t = 5,71$, $p < 0,0001$) для міді, 13,01 % ($t = 4,96$, $p < 0,0001$) для марганцю, 15,41 % ($t = 4,34$, $p < 0,0001$) для цинку, відповідно.

За умов відміни вживання СВМ спостерігалися значні варіації рівня спектрофотометричних даних хімічних елементів у зразках матки щурів у групі 3 (90-та доба відновлення), а показники їх мінливості залежали від моделі експерименту (табл. 3.4.2).

Таблиця 3.4.2.

Показники вмісту ВМ у матці щурів групи відновлення на 180-ту доби.

	Fe	Zn	Cu	Mn	Cr	Pb
ВМ(90)+ 90відн	136,92 ±12,84***	47,97 ±3,22***	7,36 ±0,31***	3,49 ±0,23***	1,471 ±0,027***	0,248 ±0,007***
ВМ(90)+ 90відн(Е)	125,67 ±8,04***	45,41 ±3,42***	6,63 ±0,28***	3,42 ±0,17***	1,405 ±0,027***	0,23 ±0,008***
ВМ+Е(90)+ 90відн(Е)	112,83 ±8,44***	40,84 ±2,73**	5,82 ±0,21***	3,03 ±0,18***	1,251 ±0,019***	0,201 ±0,009***

Примітка: ВМ впорядковані від більших концентраційних показників до менших та представлені у мкг/г як $M \pm SD$. Рівні значущості в порівнянні з контролем: ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$.

Так, у тварин серії ВМ(90)+90відн на 180 добу дослідження відмічалось достовірне ($p < 0,0001$) перевищення порогових інтактних значень на 73,43 % ($t = 37,49$), 61,29 % ($t = 56,13$), 59,92 % ($t = 10,43$), 51,13 % ($t = 19,65$), 43,03 % ($t = 11,8$) та 51,09 % ($t = 7,89$), відповідно для Pb, Cr, Fe, Cu, Mn та Zn (рис. 3.4.7).

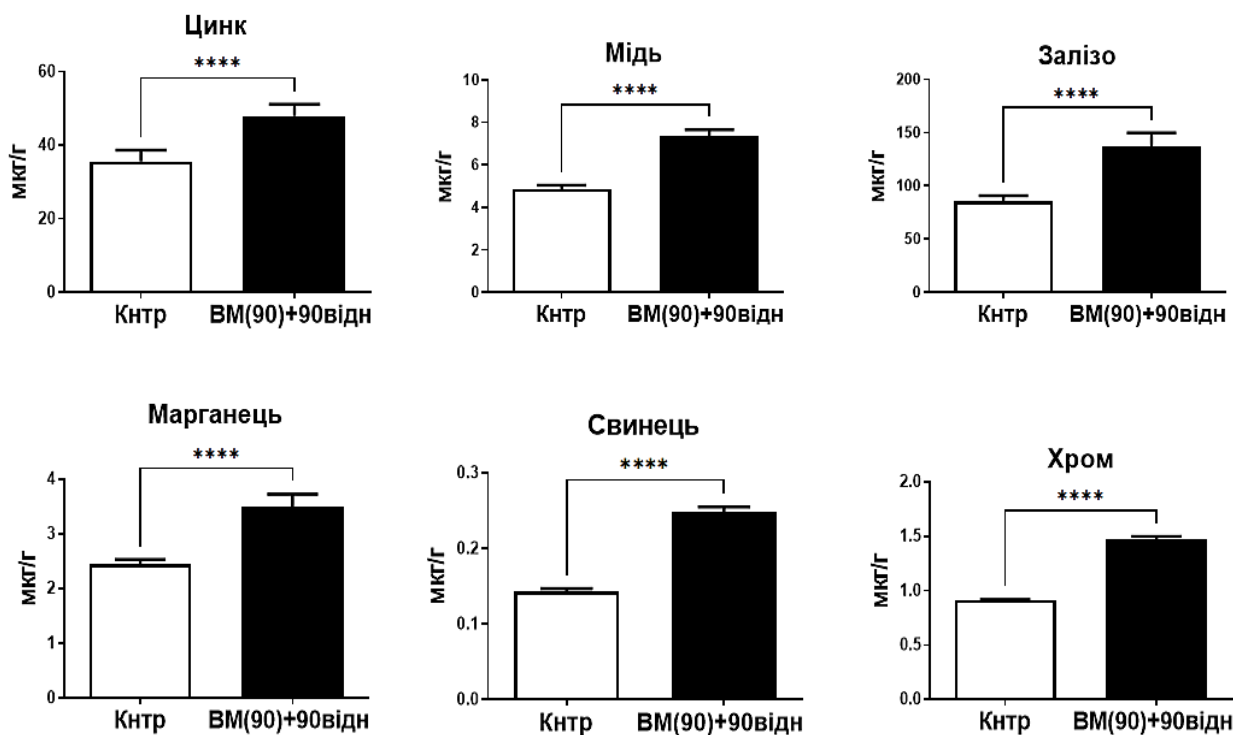


Рис. 3.4.7. Вміст VM у тканині матки щурів серії VM(90)+90відн в порівнянні з Кнтр. Дані представлені як $M \pm SD$ (Бари – стиль Т із верхнім напрямком). Показники аналізували за допомогою t-критерію Стьюдента. Рівні значущості: **** $p < 0,0001$.

Для вивчення протекторних властивостей коректора у тканині матки щурів по відношенню до іонів VM у період відновлення (група 3) нами проаналізовано показники спектрального аналізатора зразків серії VM(90)+90відн(E) та серії VM+E(90)+90відн(E). Встановлено, що концентрації металів-мікроелементів залишались понаднормовими для свинцю на 60,87 % ($t = 26,99$) та на 40,56 % ($t = 16,16$) ($p < 0,0001$), хрому – на 54,06 % ($t = 49,82$) та на 37,17 % ($t = 47,34$) ($p < 0,0001$), заліза – на 46,78 % ($t = 11,73$) та на 31,78 % ($t = 7,71$) ($p < 0,0001$), міді – на 36,14 % ($t = 14,90$) та на 19,51 % ($t = 9,77$) ($p < 0,0001$), марганцю – на 40,16 % ($t = 14,46$) та на 24,18 % ($t = 8,31$) ($p < 0,0001$), цинку – на 27,45 % ($t = 6,04$, $p < 0,0001$) та на 14,62 % ($t = 3,61$, $p = 0,003$), відповідно (рис. 3.4.8 та рис. 3.4.9).

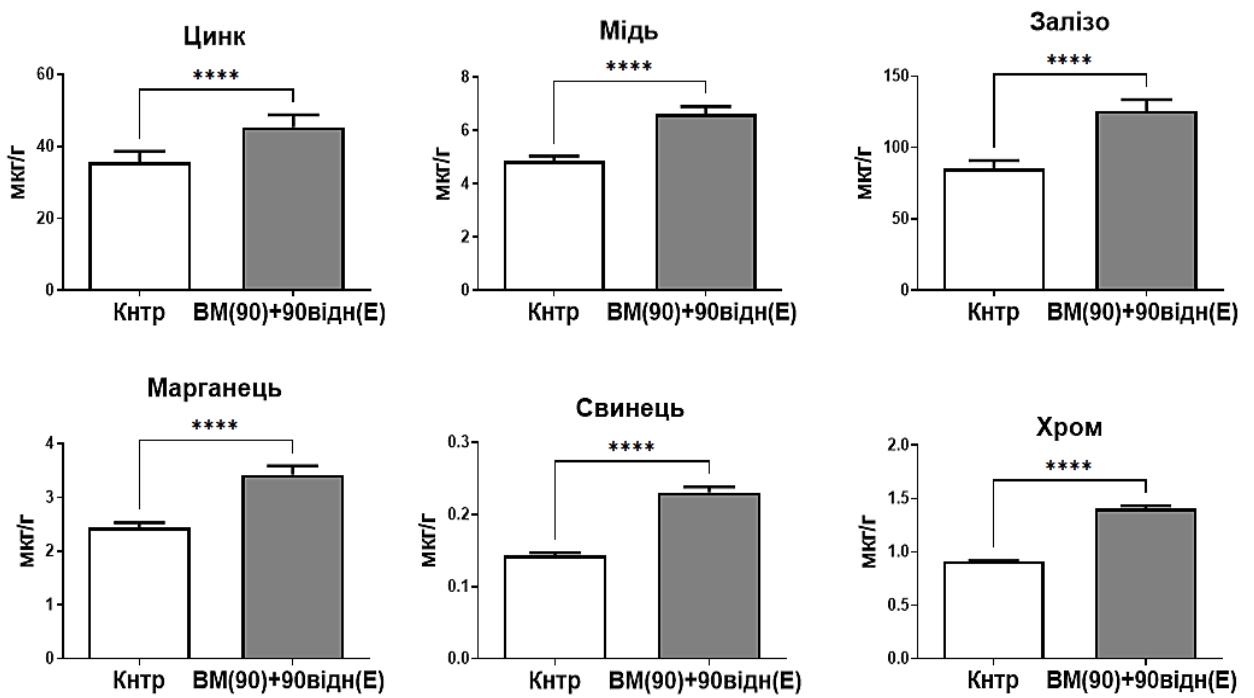


Рис. 3.4.8. Вміст ВМ у тканині матки щурів серії ВМ(90)+90відн(Е) в порівнянні з Кнтр. Дані представлені як $M \pm SD$ (Бари – стиль Т із верхнім напрямком). Показники аналізували за допомогою t-критерію Стюдента. Рівні значущості: **** $p < 0,0001$.

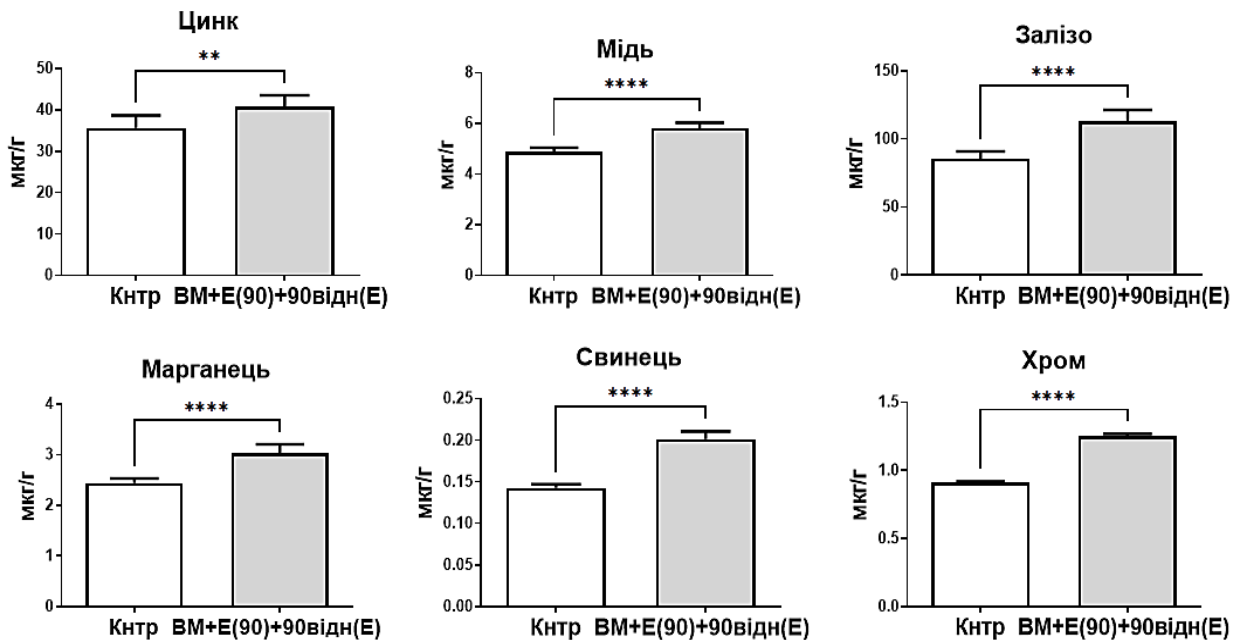


Рис. 3.4.9. Вміст ВМ у тканині матки щурів серії ВМ+Е(90)+90відн(Е) в порівнянні з Кнтр. Дані представлені як $M \pm SD$ (Бари – стиль Т із верхнім напрямком). Показники аналізували за допомогою t-критерію Стюдента. Рівні значущості: ** $p < 0,01$; **** $p < 0,0001$.

Важливо відмітити, що показники акумулятивного вмісту окремо взятих ВМ серії ВМ(90)+90відн(Е) та серії ВМ+Е(90)+90відн(Е) значно ($p < 0,0001$) домінували над Кнтр для цинку ($F = 24,31$), для міді ($F = 144,3$), для заліза ($F = 47,34$), для марганцю ($F = 60,51$), для хрому ($F = 1067,0$) та для свинцю ($F = 310,5$), хоча вони більше приблизились до норми відносно результатів серії ВМ(90)+90відн (рис. 3.4.10).

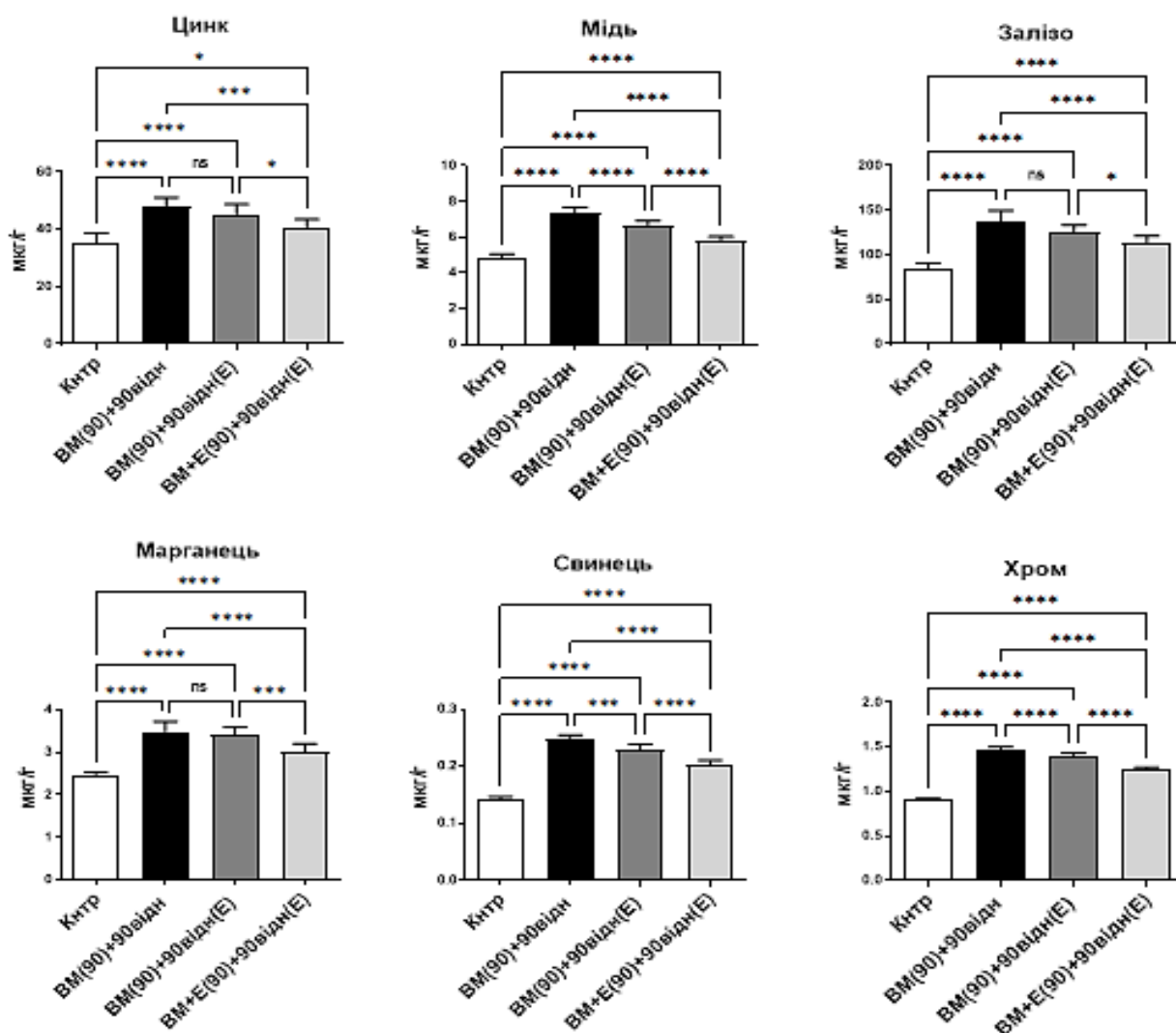


Рис. 3.4.10. Порівняння рівнів ВМ у тканині матки щурів серій ВМ(90)+90відн, ВМ(90)+90відн(Е), ВМ+Е(90)+90відн(Е) та Кнтр. Дані представлені як $M \pm SD$ (Бари – стиль Т із верхнім напрямком). Показники аналізували за допомогою однофакторного дисперсійного аналізу ANOVA з поправкою за Бонферроні. Рівні значущості: * $p < 0,05$; *** $p < 0,001$; **** $p < 0,0001$.

При цьому, порядок зростання кумулятивного потенціалу хімічних елементів в тканині органа у відсотках був наступним: для серії VM(90)+90відн – Pb > Cr > Fe > Cu > Mn > Zn (від найбільшого до найменшого), для серії VM(90)+90відн(E) – Pb > Cr > Fe > Mn > Cu > Zn (від найбільшого до найменшого), для серії VM+E(90)+90відн(E) – Pb > Cr > Fe > Mn > Cu > Zn (від найбільшого до найменшого).

Схожа тенденція відмічалась і в різниці загальних показників між серіями групи 3. Сумарний результат вмісту VM у стінці матки перевищував контрольні показники серії Кнтр ($129,61 \pm 7,31$ мкг/г) на 52,34 % ($197,45 \pm 12,63$ мкг/г; $t = 13,15$, $p < 0,0001$) у серії VM(90)+90відн, на 41,01 % ($182,76 \pm 8,14$ мкг/г; $t = 13,74$, $p < 0,0001$) у серії VM(90)+90відн(E), на 26,51 % ($163,97 \pm 8,82$ мкг/г; $t = 8,49$, $p < 0,0001$) у серії VM+E(90)+90відн(E). Порівнюючи результати дисперсійного аналізу серій групи відновлення, стає очевидним зниження (від найбільшого до найменшого) сумарного концентраційного діапазону на 7,44 % ($t = 3,11$, $p = 0,03$) – відношення серії VM(90)+90відн до серії VM(90)+90відн(E), на 16,96 % ($t = 7,09$, $p < 0,0001$) – відношення серії VM(90)+90відн до серії VM+E(90)+90відн(E), на 10,28 % ($t = 3,98$, $p = 0,003$) – відношення серії VM(90)+90відн(E) до серії VM+E(90)+90відн(E).

Опираючись на отримані результати атомно-абсорбційної спектрофотометрії тварин усіх досліджуваних груп та серій, можна стверджувати, що VM здатні накопичуватись у тканині матки та досягати високих значень за умов їх дії на організм. Однак, з пролонгацією дослідження інтенсивність їх акумуляції дещо знижується. Застосування протектору знайшло своє відображення у зменшенні рівня відкладання іонів VM у стінці органа та більш швидкому очищенню тканини матки щурів від токсикантів. Хоча вміст металів достовірно знизився у відновний період, до порогових показників норми вони так і не повернулися.

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. **Sikora K**, Lyndina Y, Awuah WA, Abdul-Rahman T, Chyzhma R, Hyriavenko N, Lyndin M, Sikora V, Romaniuk A. Microelement imbalance in the rat uterus after short-term heavy metals exposure. *Fiziol Zh.* 2022;68(6):12–7. DOI: 10.15407/fz68.06.012.

2. **Sikora K**, Lyndin M, Sikora V, Hyriavenko N, Piddubnyi A, Lyndina Y, Awuah WA, Abdul-Rahman T, Korobchanska A, Alexiou A, Romaniuk A. Heavy metals effect on the rat uterus and effectiveness of vitamin E treatment. *JJBS.* 2023;16(3):455-65. DOI: 10.54319/jjbs/160309.

3. Wireko AA, **Sikora K**, Lyndin M, Hyriavenko N, Romaniuk A. Heavy metals effect on the chemical composition variations in rat uterus tissue. International Medical Students' Congress of Bucharest; 09-13 December 2020; Bucharest, Romania; 2020. p. 44.

4. **Сікора КО**, Линдіна ЮМ, Авуах ВЕ, Романюк АМ. Оцінка змін морфологічної будови та елементного складу матки щурів після відміни дії важких металів. Матеріали Всеукраїнської міждисциплінарної науково-практичної конференції з міжнародною участю «УМСА – століття інноваційних напрямків та наукових досягнень (до 100-річчя від заснування УМСА)» присвячена 100-річчю заснування Української медичної стоматологічної академії; 8 жовтня 2021; Полтава, Україна. Полтава: Полтавський державний медичний університет; 2021. с. 156–7.

5. **Sikora K**, Lyndina Y, Hyriavenko N, Wireko A, Abdul-Rahman T, Tsepochko D, Romaniuk O, Lyndin M, Romaniuk A. Vitamin E inhibits heavy metals accumulation in the uterus during short- and long-time exposure. 35th European Congress of Pathology; 09–13 September 2023 (Dublin, Ireland); Berlin, Germany: Springer. *Virchows Archiv:* 2023;483(Suppl 1):S93.

РОЗДІЛ 4

АНАЛІЗ ТА ОБГОВОРЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

Проживання в умовах техногенного забруднення супроводжується порушенням еволюційно запрограмованих особливостей існування організму [143,144]. Тотальне та прогресивне накопичення в довкіллі полютантів несе велику загрозу для живих організмів. Тому, окрім дій спрямованих на зменшення щоденних викидів у довкілля та їх впливу на екосистему, важливу увагу приділяється пошукам очищення (дегазації та дезактивації) від вже існуючого забруднення [1,2,145,146]. У той же час, велика кількість досліджень присвячена вивченню способів існування істот на тлі дії хімічних токсикантів. Таке «співіснування» може залежати як від природи походження та шляхів впливу ВМ на організм, так і від індивідуальних особливостей кожного виду, оцінки ефективності заходів індивідуального захисту чи профілактики населення, соціальної поведінки, результатів стану здоров'я та соціально-демографічних ознак [3,5,145,147,148]. Більш того, навіть у природних умовах есенціальні та токсичні метали-мікроелементи мають довгий період виведення чи розпаду, тому імовірність їх адетивної контамінації є високою навіть у регіонах з низьким рівнем урбанізації та технологічного прогресу [7,12,31,39,66,73]. Беручи до уваги те, що властивості ВМ можуть змінюватися під дією численних факторів, наслідки їх контакту з організмом можуть бути вкрай непередбачуваними.

Для розуміння можливих механізмів порушення будови та функціонування матки статевозрілих щурів самиць зумовлених дією СВМ на організм, першочергово нами було встановлено основні контрольні критерії вихідних даних інтактних тварин. Завдяки комбінованому використанню гістологічних, гістоморфометричних, атомно-абсорбційно-спектрофотометричних, імуногістохімічних та імунофлуоресцентних методів дослідження, було детально візуалізовано організацію структурних компонентів матки, виміряно загальну товщину стінки органа та окремих її

оболонок, вивчено рецепторний статус (EP, ПР, МКА-PEA1, СОД1 та Hsp90 α) та отримано дані щодо складу хімічних елементів у тканині. Загалом, на цьому етапі, окремі результати наших досліджень знайшли своє підтвердження та доповнення у літературних джерелах [16,78,90,149-152], хоча деякі показники були описані вперше [112,153-156].

У ході розвитку організму відбуваються численні варіації морфології, лінійних розмірів, об'єму та форми органів. Ці зміни є фізіологічними та характерними для конкретних вікових меж і можуть виникати у різних органах у різноманітних проміжках життєвого циклу та з різною швидкістю. Однак, ці трансформації не завжди призводять до виражених змін організації чи функціонального стану. На відміну від більшості органів, матка зазнає постійних циклічних змін у відповідь на секрецію статевих гормонів. Так, гомеостаз матки підпорядковується біологічним ритмам організму, що супроводжується стабільністю, збільшенням або зменшенням товщини органа [107,112,127,157-159].

Саме тому, одним з основних критичних індикаторів розуміння впливу ВМ на матку став морфометричний аналіз її товщини. Дисбаланс показників товщини структурних елементів стінки органа під дією різних металів описаний і в інших дослідженнях [11,158-161], однак характер цих змін не є достовірно визначеним. Нами встановлено достовірне потовщення (збільшення на 31,03 % відносно контролю) стінки матки, за рахунок обох основних оболонок (слизової та м'язової), вже на 30-й день експерименту. При цьому, периметрій залишався стабільним упродовж усього дослідження. За умов пролонгації дослідження до 90-то днів, було виявлено стоншення стінки (на 37,99 % відносно контролю) матки і її основних оболонок. Відновний період характеризувався певною тенденцією наближення товщини матки щурів до контролю як у тварин з реадаптацією власними захисними механізмами (ВМ(90)+90відн – зменшення на 29,08 %), так із додаванням вітаміну Е (ВМ(90)+90відн(Е) – зменшення на 22,14 %).

Аналіз гістоморфометричних параметрів у динаміці вказав на різницю товщини стінки матки тварин у 108,11% ($p < 0,0001$) між серіями ВМ(30) та ВМ(90) з пролонгацією вживання суміші СВМ з 30-ти до 90-то діб. У той же час, вилучення полютантів з водного раціону на наступні 90-то днів супроводжувалось незначним (11,01 %; $p = 0,04$) збільшенням показників органа у серії ВМ(90)+90відн, порівняно з щурами серії ВМ(90). При цьому, дещо кращі ознаки стабілізації лінійних даних товщини матки (збільшення 21,87 %; $p = 0,002$) спостерігалися у гризунів, яким вводили вітамін Е упродовж періоду відновлення (серія ВМ(90)+90відн(Е)).

Такий дисбаланс товщини органа відображав зміни показників кожної оболонки з пролонгацією експерименту. Так, порівняно з 30-ою добою, на 90-ту день було встановлено відповідне стоншення ендометріальної оболонки на 55,08 % ($p < 0,0001$) (враховуючи зниження висоти покривного епітелію на 69,82 % ($p < 0,0001$) та власної пластинки на 54,08 % ($p < 0,0001$)) та м'язової оболонки – на 47,43 % ($p < 0,0001$) (враховуючи зменшення розмірів субмукозного (на 45,48 %, $p < 0,0001$) та субсерозного (на 49,39 %, $p < 0,0001$) шарів). Товщина серозної оболонки не зазнавала достовірних змін ні на 90-ту добу ні на 180-ту ($p > 0,05$).

У той же час, гістоморфометричні дані оболонок матки щурів серій ВМ(90)+90відн та ВМ(90)+90відн(Е) варіювали з тенденцією до стабілізації у порівнянні з серією ВМ(90). Так, загальна товщина слизової та м'язової оболонок зросли на 8,29 % ($p > 0,05$) та 15,95 % ($p = 0,04$) у серії без коректора і на 21,42 % ($p = 0,014$) та 23,99 % ($p = 0,004$) у серії з застосуванням вітаміну Е, зокрема за рахунок висоти люмінального епітелію (на 8,65 % та 19,43 %, $p > 0,05$), строми (на 8,28 % ($p > 0,05$) та 21,51 % ($p = 0,017$)), циркулярно (на 12,33 % ($p > 0,05$) та 25,03 % ($p = 0,009$)) та поздовжньо (на 19,9 % ($p = 0,034$) та 22,86 % ($p = 0,025$)) розташованих гладких м'язових волокон, відповідно.

З результатів нашого дослідження випливає, що 30-денна експозиція ВМ є достатньою, щоб викликати помітний негативний ефект на товщину

матки тварин. Зміни, зумовлені тривалим (90-денним) впливом поллютантів розвивалися у протилежному напрямку. У той же час, повноцінного відновлення впродовж наступних 90-то днів, після відміни вживання СВМ, не відбувалось. Згідно зі спостережень, ендометрій щурів характеризувався найбільшою чутливістю до дії поллютантів. Це стосувалось як збільшення його товщини на 30-ту добу, так і стоншення на 90-ту добу, а більш того – і у відновний період. Менш виразніші зміни було виявлено у міометрії. Хоча морфометрія останнього змінювалася повільно (порівняно з ендометрієм), м'язова оболонка демонструвала повільну тенденцію до стабілізації при очищенні організму. Загальна динаміку варіації товщини матки упродовж усього терміну експерименту показана на рис. 4.1.

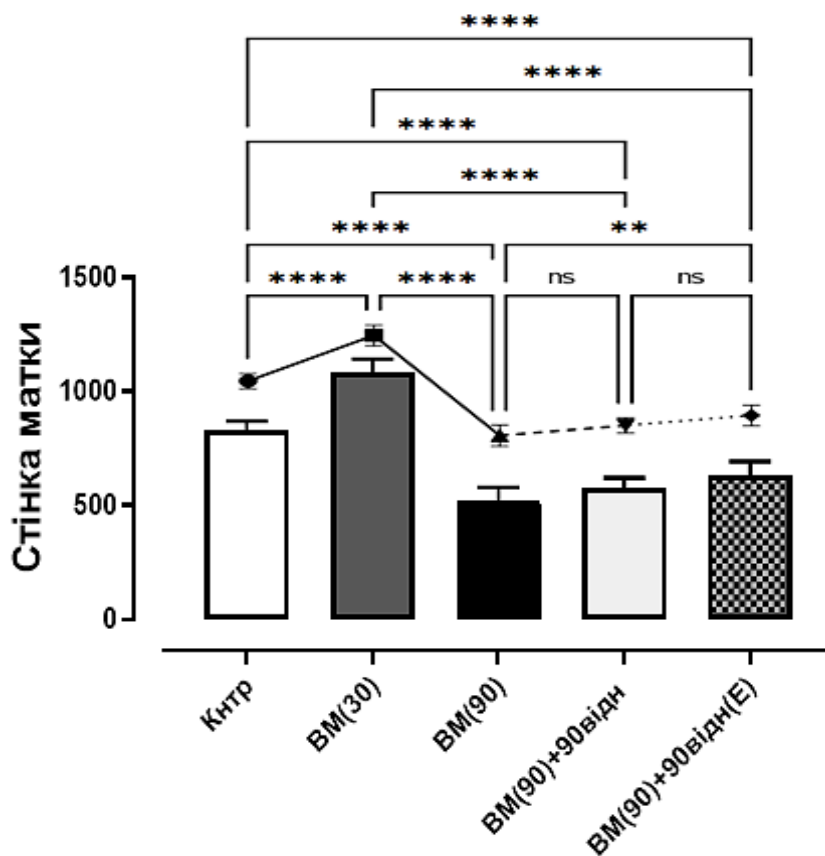


Рис. 4.1. Показники динаміки змін товщини матки щурів серій ВМ(30), ВМ(90), ВМ(90)+90відн та ВМ(90)+90відн(Е). Дані представлені як $M \pm SD$ (Бари – стиль Т із верхнім напрямком). Рівні значущості для однофакторного дисперсійного аналізу ANOVA з поправкою за Бонферроні: ** $p < 0,01$; **** $p < 0,001$.

Разом з тим, застосування вітаміну Е мало не однозначний протекторний ефект на товщину структурних елементів стінки матки щурів самиць упродовж всього терміну експерименту. Так, зростання товщини матки щурів на 30-ту добу досягало високих значень (збільшення на 20,58 % відносно контролю; $p < 0,0001$) навіть на тлі вітаміну Е (достовірно вище контрольних показників), однак представлені порушення були менш виразнішими порівняно з тваринами, які не отримували коректора. Варто звернути увагу, що параметри товщини м'язової оболонки піддавалися меншим коливанням на відміну від слизової оболонки.

Відповідно, було помічено, що з продовженням спостереження до 90-го діб за морфометричними параметрами матки у динаміці для серії VM+E(90) було виявлено стоншення стінки органа на 60,57 % ($p < 0,0001$), порівняно з серією VM+E(30). У той же час, різниця з контрольними значеннями склала 37,99 % ($p < 0,0001$) у сторону зменшення.

Також, застосування вітаміну Е упродовж усього терміну експозиції VM та після їх відміни призвело до більш позитивної тенденції протекції та відновлення. На відміну від показників товщини матки щурів серії VM+E(30), у тварин серії VM+E(90) відмічалось зниження висоти епітелію (на 53,38 %, $p < 0,0001$) та показників власної пластинки (на 38,77 %, $p < 0,0001$), що відобразилось на загальному зменшенні товщини ендометрію на (на 39,63 %, $p < 0,0001$). Міометрій же зменшився (на 35,35 %, $p < 0,0001$) за рахунок стоншення циркулярного (на 33,93 %, $p < 0,0001$) та поздовжнього (на 36,69 %, $p < 0,0001$) шарів. Найбільш виразні зміни були характерними для ендометрію та окремих його компонентів.

Варто відмітити, вилучення щоденної дії VM на організм після 90-го днів з одночасною пролонгацією терапії вітаміном Е (180-денна адміністрація коректором) сприяло зростанню морфометричних показників стінки матки на 12.69% ($p = 0,003$) у тварин серії VM+E(90)+90відн(Е), відносно серії VM+E(90), що свідчить про позитивну тенденцію до

стабілізації цих показників у відновний період разом з застосуванням коригуючого препарату. Це також підтверджується найближчим наближенням до норми серед усіх серій групи відновлення: товщина маток тварин серії VM(90)+90відн поступались цифровим значенням тварин серії VM(90)+90відн(E) на 8,91 % ($p > 0,05$) та на 17,41 % ($p < 0,0001$) тварин серії VM+E(90)+90відн(E). У той же час, товщина матки була меншою на 9,34 % ($p > 0,05$) у щурів серії VM(90)+90відн(E), відповідно до щурів серії VM+E(90)+90відн(E) (рис. 4.2).

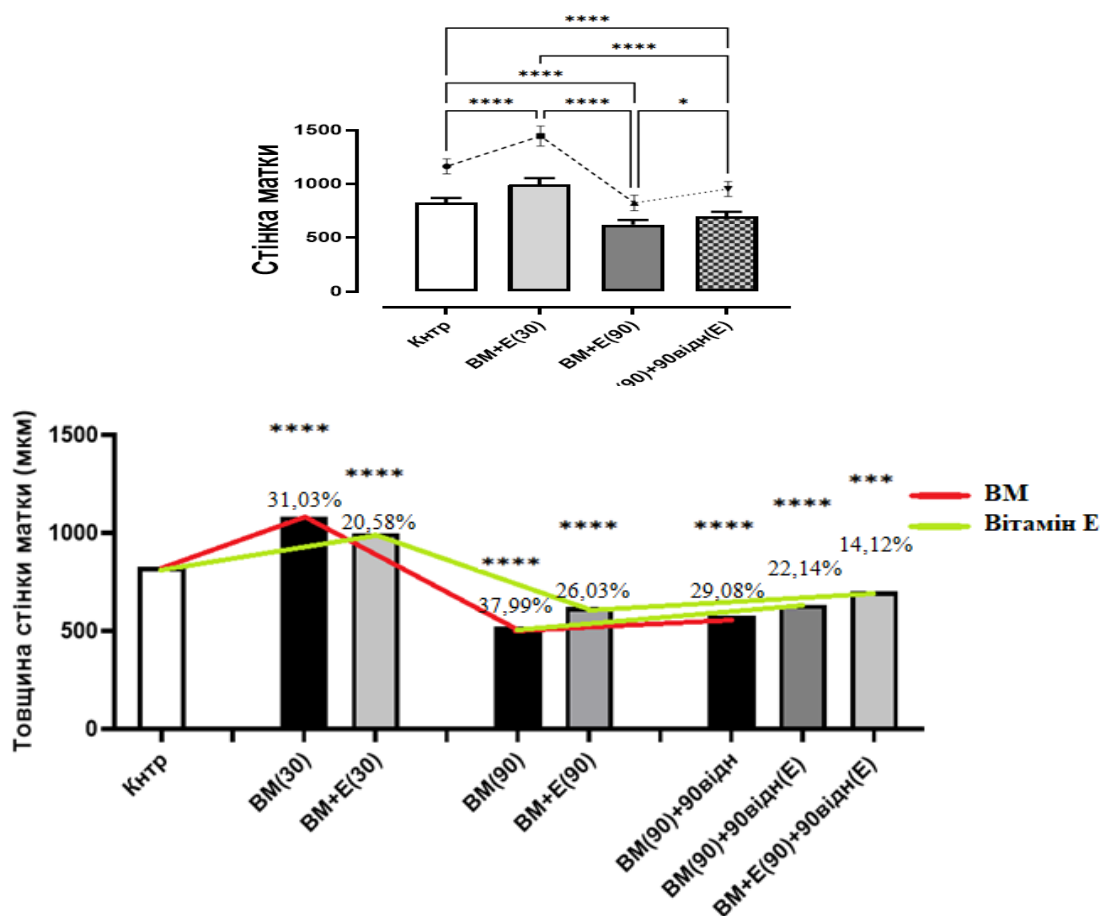


Рис. 4.2. Показники товщини матки щурів серій VM+E(30), VM+E(90) та VM+E(90)+90відн(E). Дані представлені як $M \pm SD$ (Бари – стиль T із верхнім напрямком). Рівні значущості для однофакторного дисперсійного аналізу ANOVA з поправкою за Бонферроні: * $p < 0,05$; **** $p < 0,001$.

У відновний період показники серії VM+E(90)+90відн(E) продемонстрували наближення до контролю та протилежну тенденцію за рахунок збільшення товщини слизової (на 13,15 % ($p = 0,03$)) оболонки за

рахунок власної пластинки ендометрію (зростання на 13,31 %, $p = 0,037$), а висота епітеліального покриття ендометрію не мала виразних змін (зростання на 9,87 %, $p > 0,05$). У той же час, різниця показників м'язової (12,29 %, $p > 0,05$) оболонки була не достовірною, загалом за рахунок товщини внутрішнього (14,98 %, $p > 0,05$) та зовнішнього (9,64 %, $p > 0,05$) шарів, порівняно з серії VM+E(90). З цього випливає, що процентні показники відновлення у серії VM+E(90)+90відн(E) були менш виразніші ніж наприклад VM(90)+90відн(E), але і варто відмітити, що і порушення товщини матки були значно меншими у серії VM+E(90) відносно серії VM(90) та були найбільш стабілізовані й наближені до контролю.

Отже, попередньо передбачити вищеописані зміни матки у відповідь на вплив підібраної комбінації VM не представлялось можливим, внаслідок варіабельності змін компонентів органа представлених у джерелах світової літератури. З одного боку, близькі за напрямком лінійні трансформації гіперпластичного характеру в матці описані, однак при цьому були використанні інші комбінації (моно- та/чи біелементи) VM, їх концентрації та часові інтервали експерименту [153,156,159-161]. З іншого боку, зустрічаються дані, які описують протилежну дію полютантів на матку, що проявлялось зворотними трансформаціями. Так, окремі дослідження повідомляють лише про збільшення висоти епітеліального компоненту та збільшення залоз на тлі інтактної строми та міометрію при низьких дозах кадмію. В той же час, збільшення його дози призвело до виражених ознак стоншення епітеліального шару і зменшення численності залоз [160]. Інші ж дослідження, стверджують, що VM здатні спровокувати потовщення ендометрію з втягненням у патологічний процес епітеліального та стромального компонентів, без видимих змін міометрію [159,162]. Вплив ванадію сприяє збільшенню виключно товщини строми ендометрія та міометрія, однак без втягнення у патологічний процес епітеліального компоненту [163]. Вплив цинку супроводжується збільшенням висоти поверхневого епітелію та кількості залоз, але не товщини органа [15].

Окрім цього, 30-ти та 60-ти денний вплив низьких доз кадмію також призводив до значного зменшення товщини ендометрію, кількості залоз у матці у фазі тічки та еозинофілії [159]. Загалом, такі відмінності пояснюються залежністю не тільки від конкретного металу та його концентрації, але й від тривалості впливу та фази естрального циклу. При цьому, зміни розмірів матки та її структур можуть бути результатом запалення, гіперплазії, гіпертрофії або атрофії клітин ендометрію чи міометрію, розширення кровоносних судин або набряку саме на тлі експозиції поллютантами [156-163].

Разом з цим, важливо акцентувати увагу на біоаккумулятивний потенціал як ВМ, так і безпосередньо матки. Відомо, що вплив ВМ на організм (як коротко-, так довготривалий) супроводжується їх беззаперечною частковою акумуляцією у різних органах та рідинах [4,8,9,16,31,164-167]. При цьому, дані щодо порушення їх рівнів у органах значно відрізняються у різних дослідженнях, як власне різняться і наслідки їх впливу. Скоріш за все, це зумовлено компенсаторними механізмами організму для захисту важливого репродуктивно органа, а також походженням забрудника і його синергізмом відносно інших мікроелементів [4,5,8,24,30,66].

Власні результати дослідження підтвердили високі акумулятивні можливості ВМ у тканині матки щурів [154,156]. При цьому, їх рівні та інтенсивність зростання були індивідуальними та мали часову залежність (рис. 4.3). Було показано, що споживання води, збагаченої сумішшю ВМ протягом 30-ти днів, призводить до аномального збільшення (52,74%; $p < 0,0001$) їх вмісту у тканині матки щурів, а також навіть на тлі застосування коректора – 36,27 % ($p < 0,0001$), хоча і достовірний позитивний ефект відмінності був доведений (менше на 16,47 %; $p = 0,001$). Окрім прийнятності тканини органа до акумуляції ВМ, було також встановлено зменшення інтенсивності їх всмоктування з пролонгацією дослідження. Так, при порівнянні спектральних показників накопичення ВМ у стінці матки на 30-ту

та 90-ту добу, було встановлено особливості тенденції до акумуляції кожного окремого ВМ залежно від тривалості експерименту.

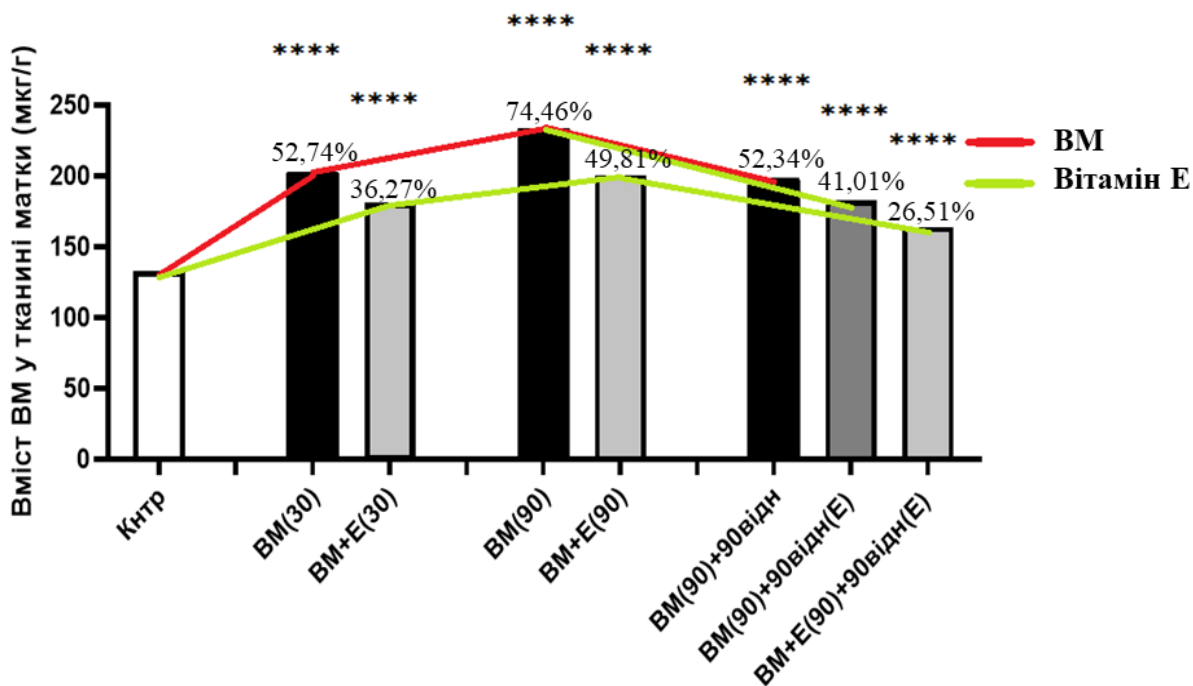


Рис. 4.3. Показники часової залежності вмісту ВМ у тканині матки щурів на 30-ту, 90-ту та 180-ту доби експерименту. Дані представлені як $M \pm SD$ та у відсотках. Рівні значущості: **** $p < 0,001$.

Так, рівні хімічних елементів у серії ВМ(90) тварин зросли на 22,83 % ($p < 0,0001$) для Рb, на 17,09 % ($p = 0,002$) для Fe, на 17,8 % ($p < 0,0001$) для Cr, на 10,98 % ($p = 0,001$) для Cu, на 16,02 % ($p = 0,0002$) для Mn, на 9,97 % ($p = 0,012$) для Zn, відповідно до результатів серії ВМ(30). У той же час, накопичувальний діапазон ВМ у тканині органа на тлі застосування вітаміну Е (серія ВМ+Е(90)) також перевищував показники порівняння (серія ВМ+Е(30)) на 30-ту добу: рівень свинцю зріс на 16,58 % ($p < 0,0001$), заліза – на 11,6 % ($p = 0,01$), хрому – на 15,24 % ($p < 0,0001$), міді – на 11,71 % ($p < 0,001$), марганцю – на 13,07 % ($p < 0,0001$), цинку – на 7,88 % ($p > 0,059$). Така відмінність між вмістом ВМ знайшла своє відображення і у різниці сумарного значення між експериментальним серіями. Відповідно, акумулятивний вміст ВМ серії ВМ(90) був на 15,05 % ($p < 0,0001$) вищим ніж

у серії ВМ(30), що свідчить про залежність між накопиченням іонів металів у матці і тривалістю їх дії на організм.

При цьому, на 90-ту добу відновного періоду було виявлено ознаки до зниження рівні ВМ у стінці органа, а інтенсивність їх зменшення залежала від застосування терапії вітаміном Е. Так, у серії ВМ(90)+90відн та серії ВМ(90)+90відн(Е) показники акумуляції були меншими 15,41 % ($p < 0,0001$) і 21,7 % ($p < 0,0001$) порівняно з даними серії ВМ(90), а також на 18,19 % ($p < 0,0001$) у серії ВМ+Е(90)+90відн(Е) серії відносно серії ВМ+Е(90).

У той же час, у тварин серії ВМ(90)+90відн на 180-ту добу дослідження відмічалось зниження акумулятивного рівня Рb (на 7,81 %; $p = 0,0002$), Cr (на 7,02 %; $p < 0,0001$), Fe (на 16,09 %; $p = 0,001$), Cu (на 5,4 %; $p = 0,02$), Mn (на 10,74 %; $p = 0,003$) та Zn (на 15,38 %; $p = 0,0002$), опираючись на дані серії ВМ(90) (група 2). Однак, при порівнянні відповідних параметрів серій ВМ(90)+90відн(Е) та ВМ+Е(90)+90відн(Е) з рівнями вмісту ВМ серій ВМ(90) та ВМ+Е(90) групи попередника, відмічалась позитивна тенденція до зниження їх акумулятивного потенціалу. Так, концентрація Рb в матці гризунів серії ВМ(90)+90відн(Е) знизилась відносно серії ВМ(90) на 14,5 % ($p < 0,0001$), Fe – на 22,99 % ($p < 0,0001$), Cr – на 11,19 % ($p < 0,0001$), Cu – на 14,78 % ($p < 0,0001$), Mn – на 12,53 % ($p = 0,0003$), Zn – на 19,9 % ($p < 0,0001$), в той час як показники серії ВМ+Е(90)+90відн(Е) знизилась на 13,36 % ($p < 0,0001$) для свинцю, на 18,9 % ($p < 0,0001$) для заліза, на 12,03 % ($p < 0,0001$) для хрому, на 17,56 % ($p < 0,0001$) для міді, на 12,43 % ($p < 0,001$) для марганцю, на 16,86 % ($p = 0,0003$) для цинку, відносно серії ВМ+Е(90).

При цьому, порядок зростання кумулятивного потенціалу хімічних елементів у відсотках у тканині органа відображений у такому порядку – Fe > Рb > Cr > Cu > Mn > Zn (від найбільшого до найменшого) для серій ВМ(30) та ВМ+Е(30), де найбільше та найменше значення належали есенціальним металам. Більш того, за умов пролонгації дослідження відбулась зміна порядку відсоткового накопичення хімічних елементів в органі – Рb > Fe > Cr > Mn > Cu > Zn (від найбільшого до найменшого) для

серії ВМ(90) та $Pb > Fe > Cr > Cu > Mn > Zn$ (від найбільшого до найменшого) для серії ВМ+Е(90), де найнижчі показники накопичення ВМ належали цинку, максимальні – свинцю. Також, привертає до себе увагу зміна порядку для Mn та Cu при застосуванні коректора. У той же час, порядок хімічних елементів (від найбільшого до найменшого) у відновний період також змінювався та був наступним: для серії ВМ(90)+90відн – $Pb > Cr > Fe > Cu > Mn > Zn$, для серії ВМ(90)+90відн(Е) – $Pb > Cr > Fe > Mn > Cu > Zn$, для серії ВМ+Е(90)+90відн(Е) – $Pb > Cr > Fe > Mn > Cu > Zn$. При цьому, елементи Mn та Cu також змінили порядок накопичення на тлі використання вітаміну Е, порівняно з серією без лікування. Така різниця в накопиченні ВМ в серіях може бути зумовлена декількома факторами, такими як: властивості кожного окремого металу; конкуруючі зв'язки (синергічні та антагоністичні) як між металами, так і з вітаміном Е [4,5,8,24,30,74,168-170]. Цікаво, що Fe, незамінний мікроелемент, продемонстрував найбільше накопичення при короткотривалій експозиції, в той час як токсичні елементи Pb і Cr проявили найбільші акумулятивні властивості саме при довготривалому впливі та у відновний період. Багато досліджень показали, що есенціальні метали необхідні і легко засвоюються організмом. Однак важко контролювати їх циркуляцію при надмірному споживанні [4,7,31,66,169,170]. Навіть коли механізми сигнального шляху токсичних металів або інших небезпечних хімічних забруднювачів значною мірою передбачувани, ефект надзвичайно високих доз есенціальних мікроелементів залишається непередбачуваним, підкреслюючи негативний вплив забруднення навколишнього середовища [4,5,8,169,170]. Дійсно, з отриманих результатів випливає, що есенціальні метали стабілізуються та виводяться дещо швидше ніж токсичні, що також може бути перспективним прогностичним індикатором.

Варто відмітити, що значно нижчі рівні акумуляції ВМ у тканині матки та їх посилене виведення при застосуванні вітаміну Е доводять доцільність використання коригуючих препаратів з антиоксидантними та

детоксикаційними властивостями [19,154,156,171,172]. Це нашоує на думку про перспективу використання вітаміну Е для контролю споживання забруднюючих речовин (як окремо, так і в поєднанні з іншими препаратами) і розроблення протоколів спрямованими на максимальний захист від впливу ВМ і сприяння їх швидкому виведенню. Хоча вміст хімічних елементів був нижчим у щурів, які отримували вітамін Е, на жаль, повернути їх рівні до вихідних значень контрольної групи у терміні експерименту не вдалося.

Окрім цього, для кращого розуміння залежності від часу експозиції та рівнів ВМ (як кожного окремого, так і їх сумарного значення) з метричними змінами стінки органа було проведено кореляційний аналіз (табл. 4.1).

Таблиця 4.1

Кореляція між накопиченням ВМ і товщиною матки на 30-ту добу досліду.

	Ендометрій		Міометрій	
	ВМ(30)	ВМ+Е(30)	ВМ(30)	ВМ+Е(30)
Pb	0.9***	0.8***	0.76***	0.67**
Fe	0.92***	0.81***	0.77***	0.75***
Cr	0.89***	0.83***	0.81***	0.69**
Mn	0.88***	0.83**	0.64**	0.61*
Cu	0.9***	0.84***	0.73**	0.6*
Zn	0.89***	0.74**	0.81***	0.63**
Всього	0.93***	0.84***	0.78***	0.75***

Примітка: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ – порівняно з контрольною групою.

Так, високі концентрації ВМ у тканині матки на 30-ту добу володіли позитивною кореляційною залежністю ($p < 0,001$) відносно варіабельності товщини стінки матки щурів: $r = 0,95$ для ВМ(30) групи та $r = 0,89$ для ВМ+Е(30) групи. Межі корелятивного взаємозв'язку були вагомими та достовірними для біоаккумулятивного впливу і окремо взятого металу-мікроелементу на стінку органа тварин груп ВМ(30) ($r = 0,94$ для цинку,

$r = 0,91$ для міді, $r = 0,87$ для марганцю, $r = 0,94$ для заліза, $r = 0,92$ для свинцю, $r = 0,93$ для хрому) та ВМ+E(30) ($r = 0,78$ для цинку, $r = 0,85$ для міді, $r = 0,84$ для марганцю, $r = 0,87$ для заліза, $r = 0,84$ для свинцю, $r = 0,87$ для хрому). Разом з цим, така ж односпрямована тенденція залежності була характерною для трансформацій товщини ендометрію та міометрію.

При цьому, на 90-ту добу спостерігалися сильні ($p < 0,0001$) негативні кореляційні зв'язки між товщиною матки щурів і накопиченням кожного окремого ВМ в обох дослідних групах (ВМ(90) проти ВМ+E(90)): Zn ($r = -0,89$), Cu ($r = -0,93$), Mn ($r = -0,91$), Fe ($r = -0,95$), Pb ($r = -0,93$), Cr ($r = -0,95$) проти Zn ($r = -0,77$), Cu ($r = -0,95$), Mn ($r = -0,87$), Fe ($r = -0,97$), Pb ($r = -0,91$), Cr ($r = -0,93$) ($p < 0,001$), відповідно (табл. 4.2).

Таблиця 4.2

Кореляція між накопиченням ВМ і товщиною матки на 90-ту добу досліду.

	Ендометрій		Міометрій	
	ВМ(90)	ВМ+E(90)	ВМ(90)	ВМ+E(90)
Pb	-0.92***	-0.85***	-0.87***	-0.84***
Fe	-0.94***	-0.85***	-0.9***	-0.83***
Cr	-0.93***	-0.87***	-0.9***	-0.84***
Mn	-0.9***	-0.8**	-0.85***	-0.82***
Cu	-0.91***	-0.9***	-0.87***	-0.84***
Zn	-0.88***	-0.74**	-0.81***	-0.65***
Всього	-0.95***	-0.86***	-0.9***	-0.82***

Примітка: ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ – порівняно з контрольною групою.

Важливо, що сила цих протилежно направлених зв'язків була різною в ендометрії та міометрії. Кореляція між показниками морфометрії стінки органа та концентрацією ВМ була дещо нижчою ($p < 0,001$) в групі ВМ+E(90) ($r = -0,91$), порівняно з групою без лікування – ВМ(90) ($r = -0,96$).

У той же час, у групі відновлення негативно направлені вектори кореляційної залежності впливу на стінку матки щурів зберігалися, однак

вони були значно меншої сили для ВМ(90)+90відн ($r = -0,91$, $p < 0,0001$), ВМ(90)+90відн(Е) ($r = -0,89$, $p < 0,0001$) та ВМ+Е(90)+90відн(Е) ($r = -0,71$, $p < 0,002$) груп, зокрема за рахунок впливу цинку ($r = -0,85$ проти $-0,76$ проти $-0,61$), міді ($r = -0,89$ проти $-0,77$ проти $-0,79$), марганцю ($r = -0,9$ проти $-0,84$ проти $-0,76$), заліза ($r = -0,89$ проти $-0,9$ проти $-0,68$), свинцю ($r = -0,93$ проти $-0,84$ проти $-0,77$) та хрому ($r = -0,93$ проти $-0,85$ проти $-0,77$). При цьому, відновні механізми після відміни вживання суміші ВМ проявлялися у вигляді зменшення сили взаємодії з акумулятивного потенціалу з товщиною окремих оболонок органа (табл. 4.3).

Таблиця 4.3

Кореляція між накопиченням ВМ і товщиною матки на 180-ту добу дослідю.

	Ендометрій			Міометрій		
	ВМ(90)+ 90відн	ВМ(90)+ 90відн(Е)	ВМ+Е(90) + 90відн(Е)	ВМ(90)+ 90відн	ВМ(90)+ 90відн(Е)	ВМ+Е(90) + 90відн(Е)
Pb	-0.85***	-0.73**	-0.63**	-0.88***	-0.78***	-0.62*
Fe	-0.79***	-0.81**	-0.51*	-0.88***	-0.82***	-0.61*
Cr	-0.86***	-0.72**	-0.58*	-0.86***	-0.83***	-0.69**
Mn	-0.85***	-0.77**	-0.67**	-0.81***	-0.73**	-0.54*
Cu	-0.82***	-0.66**	-0.65**	-0.83***	-0.75***	-0.63*
Zn	-0.78***	-0.71**	-0.57*	-0.8***	-0.65**	-0.39
Всього	-0.81***	-0.81***	-0.56*	-0.88***	-0.8***	-0.61**

Примітка: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ – порівняно з контрольною групою.

Вищеописані результати демонструють сильну залежність між надлишковим вмістом ВМ у тканині матки та варіабельністю морфометричних даних. При цьому, їх направленість виразно змінюється з пролонгацією дослідження з 30-ти до 90-го днів. Надалі, сила взаємозв'язків зменшується, а кореляційні вектори залишаються негативними у відновний період. Найбільше дії ВМ піддавався ендометрій.

Результати цього дослідження також допомогли встановити негативний вплив ВМ і на морфологію матки щурів. При цьому, патоморфологічні трансформації у стінці органа вражали своєю гетерогенністю та глибиною пошкодження. Важливо звернути увагу, що діагностовані зміни та їх інтенсивність мали часову залежність від тривалості експозиції ВМ на організм.

На 30-ту добу, було виявлено важкі ознаки ураження структурних елементів матки щурів гіперпластичного і гіпертрофічного характеру. Увагу привертало значне нерівномірне потовщення стінки органа (переважно за рахунок слизової оболонки), а також звуження та деформація просвіту матки. Порушувалася стратифікація поверхневих та залозистих епітеліоцитів, переважна більшість яких зазнавали дистрофічних змін. Значно зросла наявність залозистого компонента, розташованого серед цитогенної стромы ендометрію. Залози розташовувались хаотично та були розділені збільшеною кількістю та клітинністю ендометріальної стромы. Їх зміни також коливались від розширення просвіту до повної його відсутності. Строма ендометрію та навколо судинної структури іноді мали ознаки від мінімального до помірного набряку зі збільшенням змішаноклітинних інфільтратів. М'язова оболонка виглядала значно потовщеною за рахунок помірно гіпертрофованих міоцитів. Збільшення кількості добре диференційованих гладком'язових клітин не спотворювало формування у пучки, хоча і вогнищево візуалізувалась їх дезорганізація. Серед гладком'язових клітин та навколо судин часто помітна помірно виражена запальна інфільтрація. Важливо те, що більша кількість еозинофілів вражала саме субмукозний шар міометрію на противагу субсерозному. У свою чергу, судини, які локалізувались у ендометріальній стромі та були меншого розміру, характеризувались ознаками повнокрів'я та стазу. Стінка окремих судин була спазмованою, потовщеною та дещо набряклою. Навколо артеріальних та венозних судин спостерігалась незначна запальна еозино-лімфоцитарна інфільтрація.

Як відомо, гіпертрофія матки під час естрального циклу є фізіологічною та слабовираженою. Такі зміни відбуваються за рахунок тимчасового підвищення рівнів естрогену, що супроводжується проліферативними перебудовами у проєструсі перед початком іншої фази [112,113,118,159]. Однак, з літературних джерел відомо, що патологічне зростання естрогенів або чутливості їх рецепторів або сполук з естрогенною активністю може супроводжуватися вже патологічною поєднаною гіпертрофією та гіперплазією (залозистою або залозисто-кістозною). Такі зміни також часто зустрічаються при гормональному лікуванні з використанням препаратів для підвищення рівнів естрогенових гормонів [127,159,173]. При цьому у процес залучені як ендометрій, так і міометрій. Так, описано, що використання андрогенних стероїдів може призвести до потовщення виключно м'язової оболонки та тлі потоншення слизової оболонки [173]. Інші автори, вказують та переважання гіпертрофічних та гіперпластичних процесів саме у ендометрії, хоча вони і не виключають комбінованого потовщення обох оболонок [159,160]. Такі виражені трансформації будови матки щурів, зокрема потовщення її стінки, дистрофічні, запальні, циркуляторні, гіперпластичні та гіпертрофічні зміни на 30-ту добу експерименту можуть бути наслідком спотвореної рецепторної активності до статевих гормонів на тлі дії ВМ. Власне, гіперпластичний характер змін ендометрію часто асоціюється з значно вищими концентраціями хімічних елементів порівняно з нормальною тканиною та розглядається як предиктор раку [152].

Складність розуміння реакції матки на дію ВМ також підтверджується дослідженнями інших авторів. Показано, що пероральний прийом кадмію в малих дозах упродовж 90-ти днів спричинив значне збільшення епітеліально-стромального компонента матки лише при мінімальній його дозі (0,09 мг/кг маси тіла). У той час, підвищення дози (4,5 мг/кг маси тіла) у ті ж терміни супроводжувалося помітною атрофією ендометрію (тонкий епітеліальний шар і нечисленні залози) [160].

При цьому, чотирьох тижневі внутрішньоочеревинні ін'єкції цинку також показали дозо-залежну деструкцію епітелію та гіперплазію ендометріальних залоз [15]. Місячне пероральне застосування свинцю до тварин у дозі 30 ppm, 100 ppm та 300 ppm також супроводжувалось дозо-залежним потовщенням слизової оболонки, вакуольною дистрофією, кістозною дегенерацією та хронічним запаленням [174].

У свою чергу, на 90-ту добу дослідження в матці щурів було виявлено протилежно направлений характер змін представлений в основному дистрофічно-атрофічними змінами (дегенерація і зменшення висоти поверхневого та залозистого епітелію разом з ядерно-цитоплазматичним співвідношенням, зменшення чисельності залоз, їх розміру та просвіту, інтерстиціальний набряк, зменшення стромальної клітинності, порушення мікроциркуляції, виявлення дезорганізації сполучної тканини і зменшення розмірів міоцитів) та стоншенням стінки органа, що було спровоковано зростанням рівня Zn, Cu, Fe, Mn, Pb and Cr в тканині матки. Підтвердженням цього є виражена кореляційна залежність ($p < 0,001$) між спектрофотометричними та морфометричними показниками. Як наслідок, це призвело до збільшення внутрішньоматкового просвіту та зменшення товщини органа. Такі зміни, в свою чергу, можуть ускладнювати рух сперматозоїдів та фіксацію ооцита, що може негативно відобразитися на репродуктивних функціях органа [86,104,175].

Зазвичай, атрофічні процеси у матці є фізіологічними та розвиваються з віком на тлі пригнічення генерації гормонів у яєчниках (обумовлено зниженням рівню гонодотропного гормону або оварієктомією), переважно естрогенових, або зниження рецепторної чутливості до них безпосередньо або порушенню регуляції ER, що сприяє зниженню реакції клітин матки. Більш того, таке порушення гормонального балансу та зменшення рівня естрогенових гормонів може бути викликане гормональною терапією (наприклад прогестинами), яка в свою чергу блокує функції яєчників (розвиток фолікулів), що також супроводжується атрофією матки [159,173].

Варто відмітити, що спровоковане дією ВМ запалення на тлі уже сформованих патоморфологічних змін також посилює генерацію вільних радикалів, що посилює гіпоксію клітин та супроводжується наступним посиленням запалення і активацією фіброгенезу [176]. У той же час, атрофічні зміни матки можуть вражати як всі оболонки органа, так певні її структурні елементи. Повідомлялось, що щоденне введення тамоксифену мишам упродовж перших 3-ох місяців викликало гіперплазію виключно епітеліального компоненту слизової оболонки разом з атрофією м'язової оболонки, а з пролонгацією дослідження до 24-го місяця, атрофічні зміни візуалізувалися як у ендометрії, так і міометрії [173]. Цікаво, що атрофічні зміни, набряк, неорганізоване розташування клітин строми та порушення ангиогенезу в матці також розвиваються на тлі дії нікотину, який також пов'язується з накопиченням ВМ в організмі. Так, автори повідомляють про механізми пригнічення біосинтезу стероїдів в яєчниках, гонадотропінів в гіпофізі та рецепторної чутливості в матці, необхідних для її функціонування та репродуктивної циклічності з подальшими дегенеративними змінами [177]. У свою чергу, дегенеративні та атрофічні зміни (дегенерація епітеліальних клітин просвіту та ендометріальних залоз (їх висоти та активності) разом із зменшенням товщини поздовжнього м'язового шару) в матці розвиваються набагато швидше (28-ім днів) при експозиції тварин миш'яком, що свідчить про більш швидку втрату компенсаторних можливостей та зниження рівню естрадіолу в сироватці крові [178]. Пероральна адміністрація тварин виключно свинцем упродовж 30-ти днів також характеризувалась атрофічними змінами, а виразність атрофії збільшувалась разом із зростанням дози полютанту [179].

Важливо відмітити, що на тлі коригуючої терапії відмічались візуально менш виражені патогістологічні зміни у стінці матки гризунів. Так, індукований вітаміном Е патоморфоз на 30-ту та 90-ту доби вказав на значну ефективність використання коректору упродовж всього дослідження, хоча повної протекції стану матки щурів від ВМ та тотального блокування їх

аккумуляції в органі не відбулось. Базуючись на результатах дослідження, адаптивне покращення морфологічного стану матки за умов використання вітаміну Е може бути обумовлено пригніченням пагубного впливу ВМ та зменшення їх аккумуляції як в тканині матки, так і в організмі в цілому. Такі морфологічні результати збігаються з даними щодо ефективності та важливості використання терапевтичних засобів (природні або штучні сполуки) з дезінтоксикаційними та антиоксидантними властивостями [20,76,136,171,172]. Нажаль, даних щодо універсального засобу для абсолютної протекції організму від дії поллютантів ми не спостерігали та не знайшли при літературному аналізі.

У відновний же період морфологія маток тварин групи 3 все ще відрізнялася від інтактних щурів, однак було встановлено відмінності стану матки між серіями, що було розцінено як ознаки тенденції до стабілізації та наближення до норми. Гістологічне дослідження допомогло встановити певне зменшення мінливості морфологічних трансформацій структурних елементів матки щурів ВМ(90)+90відн), ВМ(90)+90відн(Е) і ВМ+Е(90)+90відн(Е) серій. Варіабельність та виразність гетерогенних змін різнилися інтенсивністю та швидкістю реадаптації. Так, значна тенденція до поступового, хоча і слабо та помірно вираженого, відновлення товщини та фізіологічного стану всіх структурних елементів матки відмічалась у серіях ВМ(90)+90відн(Е) та ВМ+Е(90)+90відн(Е), в той час лише мінімальні ознаки адаптативних змін були у серії ВМ(90)+90відн. Найближче ж до морфологічного стану норми наблизились матки тварин, які вживали вітамін Е впродовж усього експерименту (ВМ+Е(90)+90відн(Е)). Незважаючи на це, повної нормалізації морфологічної картини не спостерігалось в жодній серії. При цьому, у літературі майже не зустрічається даних щодо відновних механізмів репродуктивних органів після вилучення поллютантів для порівняння результатів, тим паче з використанням коректору у цей період.

Що ж стосується впливу поллютантів на матку, то схожі морфологічні та морфометричні зміни на тлі дії ВМ описані в інших дослідженнях [152,159,160,162,174,177,178], однак, при цьому, були використанні інші комбінації (моно- та/чи біелементи) хімічних елементів, різноманіття їх концентрації та часові інтервали експерименту. З іншого боку, зустрічаються дані, які описують виключно гіперпластичні зміни слизової оболонки матки на тлі дистрофічних змін [159,162,174,180,181]. Автори вказують, що накопичення ВМ в організмі може як стимулювати, так і пригнічувати активність статевих гормонів та їх вплив на рецептори в матці [181]. Також існує залежність між накопиченням поллютантів в матці та зростанням ризиків різноманітних захворювань матки у людей (поліпи, гіперплазії, фіброматозні вузли та рак) [12, 16,100,108,152,182]. Більш того, в наших інших дослідженнях, перебудови дистрофічно/атрофічного та/або онкологічного характеру інтоксикаційного генезу були виявленні також в інших органах (сечовий міхур, кістковий мозок та інші) [70,76,77,108].

Добре відомо, що існує залежність між ВМ та порушенням імунних функцій в організмі на різних рівнях через ініціацію запалення або імуносупресію. Імуномодельючий ефект поллютантів може проявлятися підвищенням рівнів серії запальних цитокінів, хемокінів й інтерлейкінів (-1 β , -4, -6 та -10, фактора некрозу пухлини), що може супроводжуватися активацією еозинофілів з безпосереднім їх зростанням як в крові, так і в тканинах [184,185]. Це підтверджується спостережуваним збільшенням клітин вродженого імунітету, зокрема нейтрофілів, Т- і В-лімфоцитів, еозинофілів, моноцитів, базофілів, макрофагів, природніх кілерів, дендритних та тучних клітини. Так, запалення є доволі частим ускладненням дії металів-мікроелементів на матку, однак причини його розвитку є до кінця не зрозумілими. Раніше вже повідомлялося, що вплив ВМ супроводжувався еозинофілією ендометрію, однак, при цьому, автори зазначали зменшення товщини слизової оболонки та кількості залоз [90,186]. Також, добре відомо

про зростання експресії еозинофільної пероксидази разом з сироватковий ендотеліном-1 та оксидом азоту [9].

У більшості випадків, потенційно токсичні та токсичні метали справляють негативний ефект як на імунну систему, так і гормональну та оксидантну системи, що, в кінцевому підсумку, призводить до всебічного порушення гомеостазу [4,5,8,152,155,187]. При цьому, варто не забувати, що деякі корисні мікроелементи, такі як цинк, мідь, залізо та інші, що на пряму відіграють важливу роль у протизапальних, антиоксидантних і імунорегуляційних процесах, а вже порушення їх рівнів несе за собою ризики непередбачуваних змін клітинних реакцій імунної системи [4,152,188].

Отже, основними патогенетичними ланками дії ВМ на матку є окислювальний стрес та гормональний дисбаланс, що призвело до виражених морфологічних трансформацій в стінці органа щурів на тлі накопичення поллютантів. Така думка узгоджується з літературними даними опису негативної дії оксидативного стресу при багатьох патологіях різного генезу [80,189,190], який супроводжується гіперпродукцією вільних радикалів, реактивних форм кисню, реактивних форм азоту і перекисного окислення ліпідів на тлі пригнічення антиоксидантних механізмів, пригніченням ферментативної активності, гормональними порушеннями, порушенням цілісності клітинної стінки та енерго-кисневого обміну, дисбалансом процесів поділу клітин та апоптозу, порушенням експресії генів (блокування сигнальних шляхів), хромосомними абераціями, патологічним метилювання та накопиченням пошкоджених ДНК, та іншим [4,8,93-96,189-193]. Однак, механізми впливу ВМ на репродуктивну систему не є повністю з'ясовані. Більш того, якщо роль токсичних металів у низьких дозах є більш менш зрозумілою (цитотоксичний, канцерогенний та генотоксичний ефекти), то надмірні концентрації необхідних (есенціальних) елементів (таких як мідь, цинк, марганець, нікель, залізо тощо) можуть заплутано діяти через складні прямі та непрямі шляхи (реакція типу Фентона, або виснаження

антиоксидантних систем) [4,8,96,191-193]. Це зумовлено їх обов'язковою фізіологічною участю у антиоксидантному захисті [4,5,8,12,74,169,194].

Чудовим прикладом цього є активність СОД в організмі. Цей ендогенний металофермент має вирішальне значення у балансуванні оксидантних/антиоксидантних процесів шляхом дисмутації супероксидних вільних радикалів [149,195-199]. Даний білок представлений в організмі трьома ізоферментами: ядерно-цитоплазматичний CuZn-СОД1, мітохондріальний Mn-СОД2 та позаклітинний CuZn-СОД3. Загалом, всі вони пов'язані з каталітичними есенціальними металами, а механізми їх дії залежать від відновлення та повторного окислення перехідних металів. При цьому, саме СОД1 є основним внутрішньоклітинним ізоферментом СОД. Так, за рахунок складних внутрішньо молекулярних дисульфідних зв'язків, СОД1 здатна утримувати іони міді та цинку, що є ключовим механізмом формування антиоксидантного захисту від вільних радикалів. Більш того, такі метали-мікроелементи як цинк, марганець та мідь входять до складу СОД1, а дисбаланс їх рівнів надходження може призвести до непередбачуваних наслідків. Це може також бути обумовлене витісненням корисних металів токсичними, що супроводжується порушенням усього ланцюга формування антиоксидантної відповіді [195-201].

При цьому, розуміння участі СОД1 в матці є складним завданням, так як експресія цього білка залежить від фізіологічного стану репродуктивного органа та може зростати або знижуватися в залежності від механізмів розвитку патологічних змін [195,198-201]. У підтвердження цього, стало достовірне зростання рівнів та інтенсивності експресії білків СОД1 в стінці матки на 30-ту добу експерименту. Така реакція, можливо зумовлена надлишковою генерацією даного білка для захисту органа від вільних радикалів, як показано раніше [195,199-202]. Пролонгація ж експерименту до 90-то діб супроводжувалась пригніченням його генерації (слабке забарвлення з недостатньою кількістю забарвлених клітин) у структурних компонентах матки щурів з незначним переважанням імунореактивних клітин у

стромальному компартменті над епітеліальним, що можна обґрунтувати виснаженням компенсаторних механізмів стабілізації клітинного апарату за умов хронічного впливу ВМ. Нажаль, рівні СОД1 залишаються на доволі низькому рівні навіть за після 90-то денного відновлення. Хоча, позитивним моментом стало те, що використання вітаміну Е значно підсилює генерацію СОД1 та допомагає підтримувати його на доволі високому рівні як під час споживання забрудненої політантами води, так і після. Так, введення в раціон коригуючого препарату на 90-то днів після 3-ох місячної експозиції достовірно стабілізує та сприяє підвищенню активності антиоксидантного ферменту СОД1 у матці. Представлені результати, частково узгоджуються з даними щодо активності СОД1 у тканині матки при отруєннях, хронічних та онкологічних патологіях [195,197,200-202].

Шаперонові білки є одними з основних протекторів фізіологічного поза- та внутрішньоклітинного гомеостазу та стабільності онтогенезу, які виробляються як адаптивна відповідь на різні зовнішні та внутрішні стреси та можуть впливати на поведінку багатьох клітинних процесів [150,203]. Біологічна роль і властивості шаперонів залежать від їх молекулярної маси; особливості їх утворення можуть змінюватись залежно від досліджуваного органу та стресових факторів. При цьому, саме Hsp90α є найактивнішим білком клітинного теплового шоку серед Hsp100, Hsp90, Hsp70 і Hsp60, так як він контролює клітинні сигнальні шляхи, виживання клітин, цілісність цитоскелета, клітинний цикл та клітинна диференціація [198,203-205].

Цікаво, що деякі шаперони потребують іонів металів-мікролементів для належного функціонування, інші ж експресуються як відповідь організму на важливі або токсичні іони металів [150,204-206]. Це означає, що Hsp беруть участь у підтримці гомеостазу іонів металів, їх прямого впливу на клітину, а також посиленої генерації при збільшені активних форм кисню. Водночас роль шаперонів у молекулярній діяльності матки при дії ВМ у надлишкових концентраціях є складним процесом і викликає багато питань [150,203-206].

Ґрунтуючись на результатах дослідження, було встановлено, що значне накопичення ВМ у тканині матки щурів призвело до вираженого дисбалансу генерації білків теплового шоку. Так, відповідно до експериментального сценарію на 30-ту та 90-ту доби досліду спостерігалось значне зростання експресії Hsp90α (від помірного до сильного забарвлення; $p < 0,01$) як в епітелії ендометрія (люмінальному та залозистому), так і в стромальних клітинах. Крім того, позитивна ядерна реакція переважала над цитоплазматичною. При цьому, шаперонова активність залишалась на доволі високому рівні і у відновний період. Варто відмітити зв'язок між гістологічними змінами у матці щурів та експресією теплових білків. Чим виразніші ускладнення дії ВМ, тим більша генерація Hsp90α. Цікаво, що ми спостерігали позитивний ефект зниження активності теплових білків при застосуванні вітаміну Е, хоча у цих серіях також відмічалися тенденція до стабілізації морфологічних змін. Посилення синтезу шаперонів може бути зумовлене активацією компенсаторних процесів стабілізації клітинного апарату для захисту репродуктивних властивостей живих організмів від дії хімічних токсикантів. Такі результати акцентують увагу на важливості вивчення даних білків як важливих індикаторів порушення внутрішньоклітинного гомеостазу індукованого ВМ.

Окрім цього, все частіше, патологічні зміни у матці пов'язують зі здатністю ВМ пригнічувати та/або стимулювати виділення гормонів або посилювати чутливість рецепторів до них [155, 207-212]. Доведено, що різні метали, такі як свинець, хром, цинк, ванадій, кадмій та інші, здатні проявляти металоестрогену дію і спричиняти зміни тривалості та регулярності естрального циклу. Незважаючи на те, що окремі ВМ поведуться по-різному, вони мають спільні риси репротоксичності. Особливо це стосується їх впливу на статеві гормони, активуючи геномну та негеномну передачу сигналів та/або імітуючи дію таких гормонів як естроген, андроген, прогестерон та інших, змінюючи функції ендокринної системи шляхом синергізації або антагонізації ендокринних гормональних ефектів [99,155,160,207,211]. Це

доводить, що ВМ здатні діяти як ліганди та приєднуватися до специфічних гормональних рецепторів, які зв'язуються з елементами відповіді в генах-мішенях, створюючи небажані ефекти, регулюючи експресію генів. Схоже, що саме такий шлях впливу на стан матки відіграє значну роль. Порушення секреції статевих гормонів та гормонального балансу в організмі, можуть призвести до різних негативних наслідків для здоров'я. Підтримка фізіологічних рівнів гормонів не може бути досягнута, якщо ці екзогенні чинники перешкоджають утворенню, транспорту або метаболізму природних гормонів в організмі [159,207]. При цьому, порушення циркуляції статевих гормонів та чутливості рецепторів до них може мати як місцевий, так і загальний характер. Так, порушення стероїдогенного шляху може бути зумовленим циркуляцією ВМ в організмі та їх накопиченням не тільки в матці, але і в мозку, яєчниках та інших ендокринних органах, порушуючи функціонування гіпоталамо-гіпофізарно-гонадної осі [160,207,208].

Саме тому, багато авторів вважають ВМ руйнівником естрогену, який імітує дії або біологічні функції гормонів естрогену з естрогенною активністю. Наприклад, було продемонстровано, що хронічний вплив ВМ впливає на рівні естрогену, прогестерону, лютеїнізуючого гормону, фолікулярний естрогену, гонадотропін-релізинг гормону, пролактину гіпофіза, і кортизолу у самок щурів [207,208]. Так, деякі ВМ проявляють здатність металоестрогенів через можливість напряму зв'язуватися з клітинним ER, отже, імітувати дії естрогенів. Відомо, що вплив ВМ з псевдоестрогеновим ефектом викликав гіперплазію матки, посилений ріст молочних залоз і індукцію гормонорегульованих генів навіть у оваріектомованих щурів. Знову ж таки, імітуючою дією естрогену володіють не тільки токсинні метали, а і есенціальні, які в високих дозах також справляють негативний ефект на гормональний баланс [99,155,160,207,211,213]. У свою чергу, гормональні порушення індуковані ВМ можуть також супроводжуватися канцерогенними, оксидативними та імунними порушеннями [100,207,210,214,215].

Результати ж представленої дослідження демонструють, що ефект ВМ, як металоестрогенів, залежить не тільки від впливу обраної комбінації та концентрації хімічних елементів, але й від тривалості їх дії. У той час як підгострий вплив (30-та доба експерименту) ВМ вказав на естроген стимулюючий ефект у матці самок щурів, хронічний же вплив полютанів характеризувався інгібуванням ЕР [155,209,212]. Так, естроген подібний ефект ксенобіотиків на 30-ту добу супроводжувався значною вищою експресією ЕР у тканині матки, що корелювало з товщиною ендометрію і міометрію (включаючи всі їх структурні компоненти), а також значне пригнічення експресії ПР. При цьому, з пролонгацією цього експерименту до 90-ти діб, було встановлено значне пригнічення експресії ЕР, що також супроводжувалося атрофічними змінами структурних компонентів матки, що може бути спровоковане пригнічення псевдоестрогенової дії за рахунок виснаження захисно-компенсаторних механізмів та зворотнім результатом їх впливу. Така ж тенденція до пригнічення активності ЕР та ПР, зберігалася протягом 180-ти днів навіть після припинення введення ВМ у відновний період, хоча їх показники їх експресії дещо покращилися. При цьому, використання вітаміну Е допомогло дещо стабілізувати показники експресії ЕР та ПР, а найбільший ефект його застосування відмічався на 180-ту добу. Так, у відновний період спостерігалась виражена тенденція до стабілізації окремих показників гормональної чутливості відносно контрольних рівнів, однак їх достовірність та інтенсивність відновлення їх експресії значно коливались між серіями ВМ(90)+90відн, ВМ(90)+90відн(Е) та ВМ+Е(90)+90відн(Е) в залежності від їх заданого сценарію дослідження. Так, пригнічення рівнів експресії ЕР візуалізувалось одразу в усіх структурних компонентах матки щурів серії ВМ(90)+90відн, в мезенхімі та циркулярному шарі органа тварин серії ВМ(90)+90відн(Е), а також стромі ендометрію гризунів ВМ+Е(90)+90відн(Е). Застосування вітаміну Е значно покращило дані показники у серіях ВМ(90)+90відн(Е) та ВМ+Е(90)+90відн(Е). Хоча, варто відмітити, що зменшення їх рівня у стромі слизової оболонки в усіх

серіях відновлення (відносно контролю) ідентифікувалось навіть на тлі коректора. З іншого боку, експресія ПР продемонстрували виразну тенденцію до стабілізації та повернення до норми під час 90-то денної реадптації одразу в усіх серіях, а порушення їх експресії було виявлено виключно у стромі слизової оболонки щурів серії VM(90)+90відн. При цьому, варто не забувати про наявність залежності між експресією естрогенових та прогестеронових гормонів [160,207,215-217].

Існує багато повідомлень щодо токсичної ролі VM як ендокринних руйнівників саме через псевдомодулюючу металоестрогенову активність ендогенних гормонів. З іншого боку, естрадіол також є відомим фізіологічним антиоксидантом, порушення регуляції якого знову повертає нас до розвитку оксидативного стресу [160,215,217]. Таким чином, зміни, які спостерігаються в матці щурів, які отримували високі дози VM в цьому дослідженні, також можуть бути пов'язані з індукцією окисного стресу в репродуктивних органах можуть бути зумовлені змінами гормонального балансу так само, як гормональні зміни можуть сприяти розвитку такого стресу [160,207,215]. Більш того, мітотична та проліферативна активність структурних елементів матки є гормональнозалежними. Так, матки з негативною або низькою експресією ER і Ki-67 та високою ПР є гіпопластичними, а матки з негативним ПР та високим ER (разом з Ki-67) є гіперпластичні [210,217]. Хоча точний механізм залежності проліферації клітин матки від VM, залишається неясним, вченими було підтверджено, що проліферація клітин після впливу ксенобіотиків може опосередковуватися через сигнальний шлях GPR30/MMP/EGFR/MAPK. Саме тому, важливо враховувати здатність VM з псевдгормональною дією до акумуляції в різних органах через можливу їх участь у розвитку патологічних (гістологічних, морфометричних та молекулярногенетичних) змін у матці [207].

Окрім вищезазначених змін, ми також спостерігали порушення генерації MKA-PEA1, який є трансмембранним білком і молекулою міжклітинної адгезії, що належить до суперродини імуноглобулінів і

сімейства карциноембріональних антигенів [218-220]. Зазвичай, цей білок міститься на епітеліальних клітинах (на апікальній поверхні) та різних лейкоцитах, а також може експресуватися на ендотеліоцитах та Т-клітинах. Основна функція МКА-PEA1 полягає в передачі позаклітинних сигналів через клітинну мембрану в цитозольний компартмент. Відомо, МКА-PEA1 відіграє роль у морфогенезі, апоптозі, ангиогенезі, проліферації клітин, рухливості клітин, фіброзі, імунній відповіді та інше [220,221].

Що ж стосується його ролі у матці, то зазвичай він експресується на апікальній поверхні люмінальних клітин та залоз [222], а також у окремих лейкоцитах в стромі ендометрію, поодиноких судинах та проміжному трофобласті для успішної імплантації. При цьому, МКА-PEA1 приймає участь у бактеріальній колонізації порожнини матки пригнічуючи слизоутворення, прозапальну реакцію інфікованого епітелію і активність лейкоцитів (необхідних для формування адаптивної імунної відповіді) [223].

У той же час, активність МКА-PEA1 частково підпорядковується стероїдним гормонам яєчника, а також корелює з збільшенням проліферації [225,225]. При цьому, експресія МКА-PEA1 на поверхневому епітелії контролюється естрогеном, а на поверхні залоз – прогестероном. Так, була сформована теорія, що на експресію цієї молекули впливає флуктуація концентрації прогестерону та естрогену, що виникають як під час репродуктивного циклу, так і при патологічних змінах. У люмінальному епітелії експресія МКА-PEA1 корелювала з піком естрогену, а його зникнення з апікальної поверхні епітелії просвіту корелює зі збільшенням прогестерону [224].

Дані про роль МКА-PEA1 у ендометрії матки можуть пояснити поведінку даного білка у матці щурів в умовах впливу ВМ. Так, на 30-ту добу експерименту спостерігався виразний синтез МКА-PEA1 на поверхні (апикальна експресія) люмінальних епітеліоцитів, окремих залоз (включаючи їх секрет) та запальних клітинах. Такий тип локалізації білків візуально переважав над контролем, що можливо зумовлено високим рівнем експресії

EP, його переважанням над PR на тлі гіперпластичних змін, а також відповіді на стрес та активації захисних сигнальних шляхів [224].

У той же час, різке пригнічення секреції EP та атрофічні зміни у матці супроводжувалися вираженим пригніченням експресії MKA-PEA1. Спостерігалась лише слабовиражена, інколи вогнищева, реакція на апікальній поверхні атрофованих епітеліоцитів та розсіяних лейкоцитів. При цьому, чисельність позитивно забарвлених ендометріальних залоз була на низькому рівні, а інтенсивність та рівномірність забарвлення MKA-PEA1 були слабовираженими.

У відновний період ідентифіковано помірну тенденцію до зростання інтенсивності експресії молекул клітинної адгезії на апікальній поверхні мембрани люмінального та залозистого епітелію ендометрію. Нерівномірне забарвлення мембран епітеліоцитів характеризувалось розкиданими вогнищами негативної експресії до MKA-PEA1у просвіті матки. Більш того, серед залозистого компоненту, здатність до продукції MKA-PEA1 візуалізувалась у більшості залоз. Присутність MKA-PEA1 на апікальній поверхні люмінальних епітеліоцитів на тлі відновлення та їх збільшення на епітелії залоз може свідчити про залежність продукції даних молекул від гомеостазу епітеліоцитів та рецепторів до гормонів.

Дослідники припускають, що стероїдні гормони яєчників викликають специфічні молекулярні зміни на люмінальній поверхні матки, щоб дозволити трофобласту прикріпитися до ендометрію та проникнути в нього. Отже, зникнення або пригнічення експресії MKA-PEA1 на поверхні епітелію може призвести до зменшення кількості специфічних рецепторів під час імплантації та зниження репродуктивної здатності, а також порушенню бар'єрних механізмів ендометрію перед інфекцією [223,224].

Окрім численних повідомлень про негативний вплив ВМ на репродуктивні органи (зниження репродуктивних функцій), існують дані щодо активації епігенетичних та адаптативних механізмів до деяких металів у вигляді збільшення загальної кількості послідів і новонароджених (уразливі

групи населення підвищують репродуктивну активність) для збереження виду [226,227]. Окрім цього, доведено токсичність ВМ у вигляді погіршення параметрів фізичного та репродуктивного здоров'я навіть у наступних поколіннях [207,227,]. Отже, зростання забрудненості довкілля та проживання на екологічно неблагополучних територіях знаходить своє відображення в зростанні ризиків погіршення стану якості води, ґрунтів та рослин, а також здоров'я [1,3,4,8,170]. Враховуючи варіабельність наслідків контакту поллютантів (за умов проживання на забрудненій території) з організмом, передбачення можливих патологічних змін є складним процесом.

Важливим елементом щоденного раціону є мікроелементи та вітаміни за рахунок їх есенціальності та участі майже у всіх процесах життєдіяльності організму, особливо у формуванні неферментативних антиоксидантних механізмів [96,]. Окрім цього, вони відіграють важливу роль саме у захисті від ВМ. Дефіцит антиоксидантів чи хронічні захворювання чи дія токсикантів супроводжуються зростанням рівня атомів з негативно зарядженим електроном у вигляді вільних радикалів (токсичних сполук), що сприяє порушенню окислювально-відновної регуляції та розвитку оксидативного стресу, перекисного окислення ліпідів і пошкодження ДНК, порушення кровообігу, розвитку дистрофії та запалення, пригніченню ферментативної активності; розвитку генних мутацій та патологічного метилювання; порушенню цілісності клітин, гіпоксії, апоптозу; гіпер- або гіпотрофічним змінами. Так, токсичні хімічні елементи можуть витіснити корисні елементи та зміщувати їх, тим самим порушуючи гомеостаз на ультраструктурному рівні. Якщо ж знижується рівень антиоксидантів на тлі дефіциту вітамінів, то це супроводжується перевагою вільних радикалів та оксидативним стресом, який, у свою чергу, пригнічує компенсаторні та захисні механізми організму. Штучна ж індукція антиоксидантів призводить до протидії вільних радикалів шляхом прямого та/або непрямого їх зв'язування [30,95,192,194].

Одним з найяскравіших представників серед вітамінів з потужними протекторними властивостями є вітамін Е. Опираючись на це, у нашому дослідженні ми використовували вітамін Е для детоксикаційної терапії, як потужного екзогенного антиоксиданта [19,20,96,228,231]. Схожі результати металопротекторної дії вітаміну Е відображенні у статтях інших дослідників. Результати цих досліджень підтверджуються і нашими висновками щодо якісної і кількісної різниці показників ефективності його застосування з протекторною ціллю від впливу ВМ на матку. Загалом, на молекулярному рівні, він здатен зв'язувати іони хімічних елементів через хелатні групи у власній молекулі, зменшуючи їх токсичність та забираючи на себе зайві електрони (перехідний метал-електронний трансфер); проявляти протизапальну активність та пригнічувати експресію запальних цитокінів та медіаторів; стимулювати генетичну експресію через сигнальні каскадні шляхи та фактори транскрипції; індукувати фазові II-ензими для детоксикації організму; нейтралізувати вільні радикали утворених ВМ надаючи їм власні атоми водню блокуючи окислення ліпідів, білків та генетичного матеріалу; захищати біологічні мембрани (збільшення її щільності та стабільності); насичувати клітини киснем; виступати у ролі ко-ферменту та підтримувати рівень інших ферментативних та неферментативних антиоксидантів (супероксиддисмутази та глутатіонпероксидази, вітамінів С та А); стабілізувати рівень гормонів першої та другої фази (естрогенно-, андрогенно- та прогестероноподібні властивості) для контролю циклу; стимулювати енергетичний обмін; контролювати біосинтез убіхінону; контролювати товщину ендометрію; брати участь у синтезі колагену; пригнічувати активність неконтрольованої проліферації та індукувати апоптоз пухлинних клітин; контролювати ангіопротекторний та мікроциркуляторний механізми; покращувати регенерацію та виносливість клітин/тканин; регулювати роботу імунних клітин та інше (рис. 4.4) [19,20,76,96,136,171,172,231,232]. Відомо також, що значне зниження рівнів цинку, міді та вітаміну Е в організмі (як на фоні впливу полютантів, так і без)

часто супроводжуються гормональним дисбалансом і високими ризиками зниження фертильності [232]. Базуючись на вищесказаному, його застосування здатне стабілізувати редокс-рівновагу, частково блокувати акумуляцію ВМ та сприяти більш швидкому очищенню організму від токсинів, що підтверджується результатами даної дисертації [15-156,233-235]. На жаль, дані щодо розробки та використання протоколів детоксикаційної терапії зустрічаються вкрай рідко.

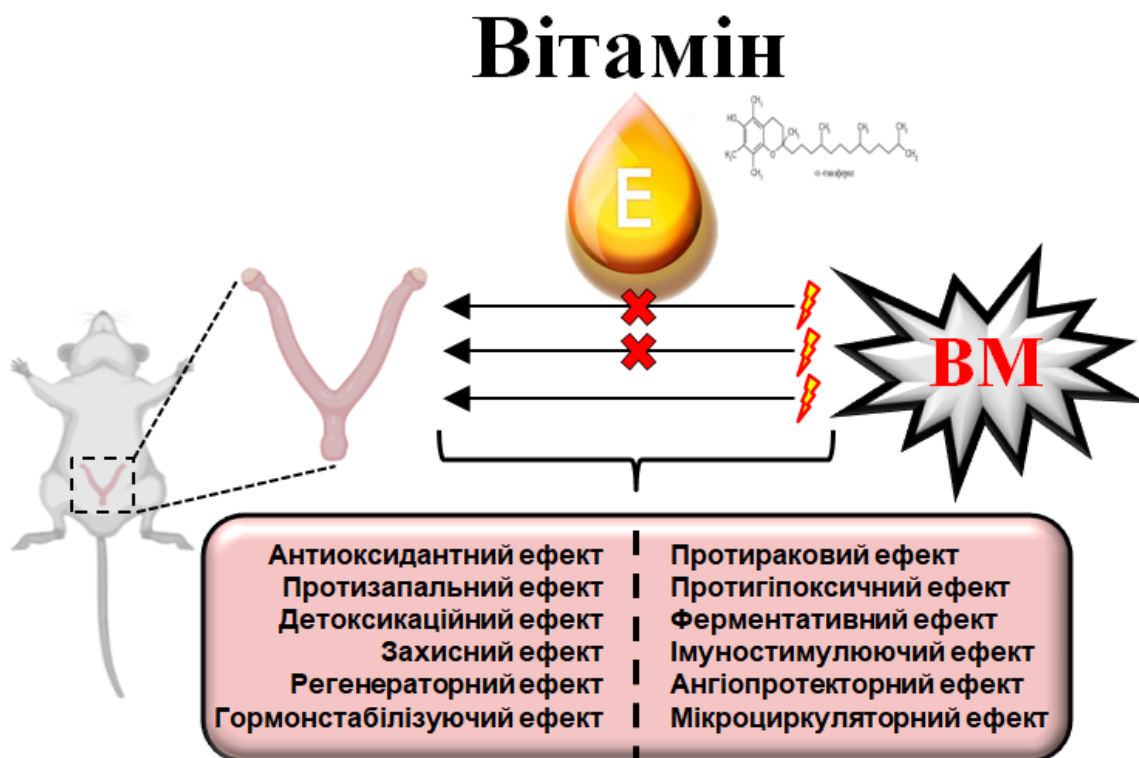


Рис. 4.4. Схема властивостей вітаміну Е у матці направлених на протидію негативному впливу ВМ.

Отже, опираючись на дані літератури та отримані результати, перед нами розкриваються основні механізми негативного впливу ВМ на матку щурів (рис. 4.5). Потрапивши до організму щурів, ВМ здатні акумулюватися у матці (як і в інших органах) поступово порушуючи внутрішньоклітинний гомеостаз через вищезгадані сигнальні шляхи (переважно через оксидантний стрес), що веде до зриву компенсаторно-захисних механізмів матки, дисбалансу редокс рівноваги, розвитку оксидативного стресу та розвитку патологічних трансформації у стінці матки, порушень товщини її

структурних елементів, імунопрофілю та дисбалансу вмісту хімічних елементів її тканини, що може слугувати важливим фактором зниження фертильності та репродуктивних можливостей [153-156,236-240].

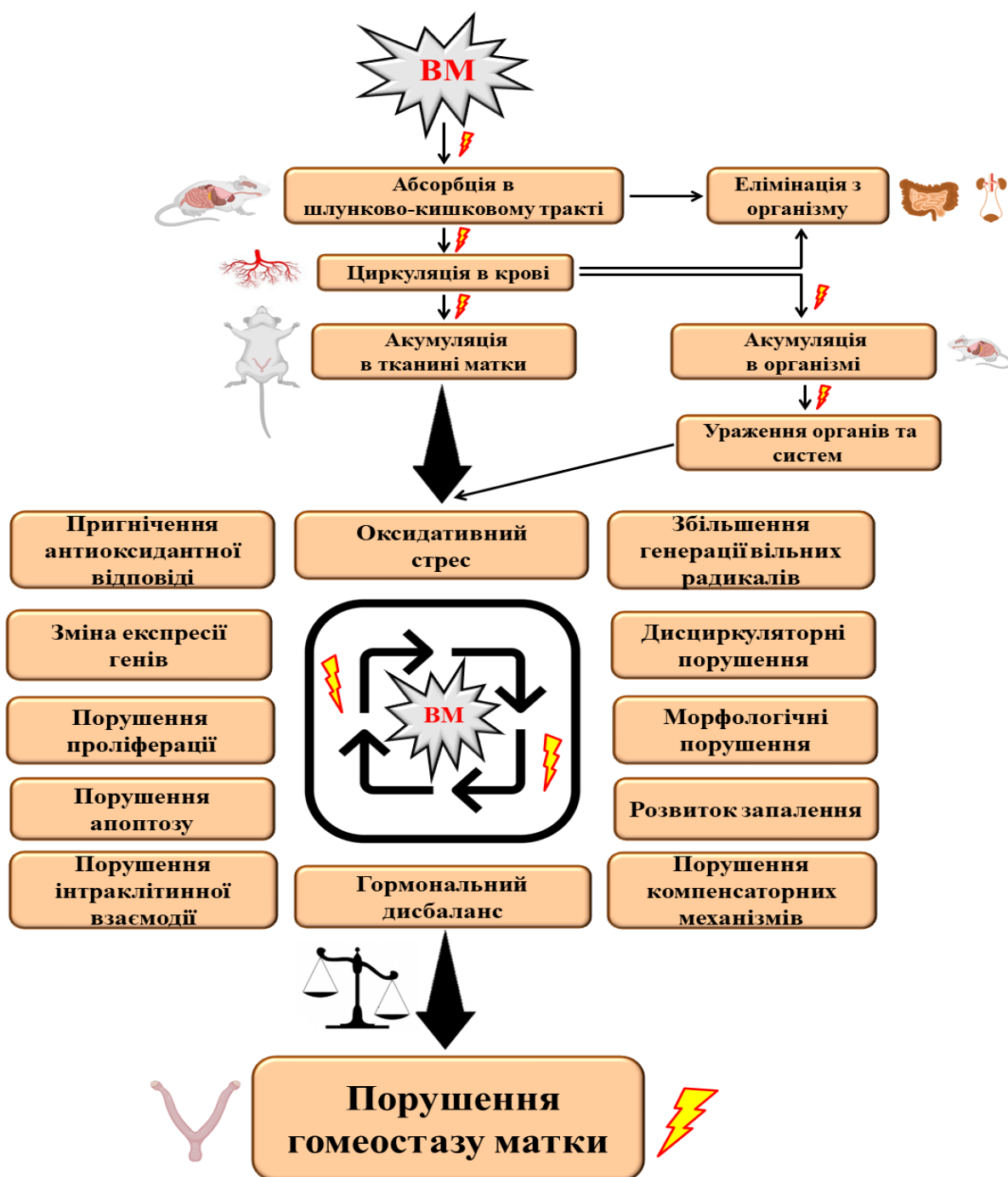


Рис. 4.5. Схема негативному впливу VM на матку щурів.

Більш того, всі виявлені порушення та індикатори змін доповнюють або активують один одного, формуючи тим самим потужний каскад взаємопов'язаних патологічних реакцій у матці. Базуючись на цьому, можна

стверджувати, що дія ВМ на матку є доволі індивідуальною та важко передбачуваною проблемою. Це дозволяє акцентувати увагу на можливій небезпеці тривалої дії екзогенних поллютантів та зростанні ризиків розвитку патологічних реакцій у матці та погіршення її функцій, що потребує урахування комбінацій та концентрацій ВМ, тривалості їх впливу, особливостей надходження до організму, характеристик локального забруднення навколишнього середовища, наявності супутньої патології, тощо [11,13,15,83,84,104,152,154,156,159,160,16,164,207].

Важливо відзначити, що короткочасний і тривалий вплив ВМ може мати як схожі, так і протилежно направлені прояви. При цьому, з часом, організм здатен активувати адаптивні механізми, які проявляються зниженням інтенсивності ураження та певною тенденцією до стабілізації окремих показників. У той же час, застосування вітаміну Е можна інтерпретувати у світлі захисної ролі для коригування негативної дії ВМ, що показало достовірну ефективність та значно прискорило наближення до норми, хоча і не продемонструвало повного захисту від поллютантів. Представлені результати дослідження не розкривають всіх аспектів шкідливого впливу ВМ як на матку, так і на організм у цілому. Однак, розкривають нові механізми активації сигнальних шляхів розвитку патологічних трансформацій в органі та можливі ризики зниження репродуктивного здоров'я, а також акцентують увагу на важливості розробки комплексних корекційно-протекторних програм для профілактики екологічно-обумовлених патологій.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі наведене теоретичне узагальнення та експериментальне вирішення наукового завдання, що стосується особливостей патоморфологічних змін матки щурів за умов надлишкового надходження в організм солей важких металів, пошуку важливих діагностичних критеріїв оцінки та прогнозування їх впливу, ефективності застосування вітаміну Е для зменшення ініційованих порушень. Отримані результати та їх аналіз викладені у наступних висновках:

1. Матка статевозрілих щурів має типову будову порожнистого органа з чіткими морфологічними характеристиками паренхіматозно-стромальних компонентів. Товщина органа ($827,6 \pm 47,56$ мкм) забезпечується морфометричними показниками слизової, м'язової та серозної оболонки. Мікроелементний вміст тканини матки включає широкий спектр хімічних елементів, загальна кількість яких становить $132,09 \pm 6,22$ мкг/г. Імунопрофіль матки підтримується збалансованим функціонуванням рецепторів до естрогену та прогестерону, молекул клітинної адгезії раково-ембріонального антигену 1, шаперонових білків 90 α та супероксиддисмутази 1.

2. За умов надходження в організм експериментальної суміші солей важких металів з наступним їх накопиченням у тканині матки виникають термін-залежні морфологічні зміни різної інтенсивності, які представлені гетерогенністю дистрофічних, гіперпластичних, гіпертрофічних, дезорганізаційних, дегенеративно-атрофічних, запальних та дисциркуляторних змін в ендометрії та міометрії на 30-ту та 90-ту доби. Імунний профіль епітеліального і стромального компонентів матки щурів супроводжується порушенням ($p < 0,01$) експресії рецепторів до естрогену та прогестерону, молекул клітинної адгезії раково-ембріонального антигену 1, шаперонових білків 90 α та супероксиддисмутази 1, а їх імунореактивність залежить від терміну експерименту. Встановлено, що ці зміни не є

однонаправленими та з пролонгацією експериментального впливу важких металів можуть характеризуватися як інтенсифікацією, так і їх супресією.

3. Аналіз гістоморфометричних параметрів демонструє виражену варіабельність товщини структурних елементів матки тварин, зумовлених 30-ти та 90-то денною дією важких металів. Після 30-ти діб впливу поліютантів спостерігається ($p < 0,001$) потовщення стінки органа на 31,03 %, зокрема за рахунок слизової (на 37,84 %) та м'язової оболонки (на 20,54 %). Протилежно направленими виявилися зміни ($p < 0,001$) на 90-ту добу досліджу – стоншення стінки матки на 37,99 %, за рахунок зменшення товщини ендометрію (на 40,28 %) та міометрію (на 35,28 %). Товщина серозної оболонки не зазнавала достовірних змін упродовж експерименту ($p > 0,05$).

4. Вплив важких металів на організм упродовж 30-ти та 90-то днів, призводить до значного зростання (відповідно на 52,74% та на 74,46 %, $p < 0,001$) їх вмісту в тканині матки щурів. Експозиція поліютантами упродовж 30-ти діб супроводжувалася збільшенням ($p < 0,0001$) рівнів цинку на 34,11 %, міді – на 44,83 %, марганцю – на 38,68 %, заліза – на 61,95 %, свинцю – на 53,15 %, хрому – на 47,91 %. При цьому, пролонгація дослідження до 90-та діб призводить до динамічного зростання ($p < 0,0001$) акумуляції відповідних показників до 49,34 % для цинку, 61,08 % для міді, 63,6 % для марганцю, 86,26 % для заліза, 88,11 % для свинцю та 73,09 % для хрому, з вираженою тенденцією до зменшення інтенсивності їх всмоктування. Окрім цього, відбувається зміна порядку акумулятивного потенціалу хімічних елементів в тканині матки: $Fe > Pb > Cr > Cu > Mn > Zn$ на 30-ту добу та $Pb > Fe > Cr > Mn > Cu > Zn$ на 90-ту добу.

5. На 90-ту добу після відміни впливу важких металів було виявлено поступове зменшення виразності патологічних змін у матці щурів. Відновний період характеризувався ознаками активації адаптаційно-компенсаторних механізмів у складі паренхіми та стромы, стабілізацією експресії рецепторів до естрогену та прогестерону, молекул клітинної адгезії раково-ембріонального антигену 1, шаперону 90 α та супероксиддисмутази 1,

поступовим ($p < 0,05$) виведення хімічних елементів із тканини матки, а також тенденцією ($p < 0,05$) до відновлення товщини її стінки.

б. На тлі застосування вітаміну Е у дозі 9,1 мг/кг відмічалось часткове зменшення негативного впливу важких металів на матку щурів у всі терміни дослідження, що проявлялось зниженням рівнів накопичення хімічних елементів та прискоренням їх виведення, менш виразними варіаціями товщини стінки матки та дезорганізаційними змінами в ній, швидшим наближенням її показників до норми, а також ознаками зменшення дисбалансу та компенсаторного відновлення показників експресії рецепторів до естрогену та прогестерону, молекул клітинної адгезії раково-ембріонального антигену 1, шаперону 90 α та супероксиддисмутази 1. Незважаючи на позитивний результат використання коректора як на тлі впливу поллютантів, так і у відновний період, повного захисту матки від дії важких металів не спостерігалось.

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

1. Отримані результати дисертаційного дослідження значно розширюють уявлення щодо особливостей перебігу та прогнозування наслідків різного терміну дії важких металів на матку щурів, що має як теоретичне, так і практичне значення для оцінки глибини змін. Рекомендована діагностична панель біомаркерів, яка сформована на аналізі експресії та рецепторної чутливості, поглиблює розуміння різних сигнальних шляхів у розвитку порушень у матці щурів під впливом важких металів.

2. На основі отриманих результатів, рекомендується розглядати застосування вітаміну Е (у дозі 9,1 мг/кг від маси тіла щурів з урахуванням видових особливостей) як ефективного засобу для пригнічення акумулятивного потенціалу ВМ і зниження пов'язаних з ними патологічних змін в стінці матки, а також для розроблення детоксикаційних протоколів з метою нівелювання їх впливу (або інших токсикантів з схожими механізмом дії) на організм тварин.

3. Матеріали дисертаційної роботи можуть мати цінність для поглиблення знань щодо особливостей діагностики порушення гомеостазу матки щурів зумовлених впливом важких металів, перебігу компенсаторно-приспосувальних процесів та прогнозування можливих наслідків у відновний період при підготовці фахівців з медицини, біології, ветеринарії та екології за тематикою екологічно-обумовлених патологій органів репродуктивної системи.

4. Розроблена та запатентована у співавторстві корисна модель автостейнеру з високими експлуатаційними можливостями програмного забезпечення може бути рекомендована до використання для одночасного забарвлення великої кількості предметних скелець з біологічними зразками за обраним протоколом для різних гістологічних та гістохімічних технік у наукових та діагностичних дослідженнях.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Sodhi KK, Mishra LC, Singh CK, Kumar M. Perspective on the heavy metal pollution and recent remediation strategies. *Curr Res Microb Sci.* 2022 Sep 22;3:100166. doi:10.1016/j.crmicr.2022.100166
2. Bala S, Garg D, Thirumalesh BV, Sharma M, Sridhar K, Inbaraj BS, et al. Recent Strategies for Bioremediation of Emerging Pollutants: A Review for a Green and Sustainable Environment. *Toxics.* 2022 Aug 19;10(8):484. doi:10.3390/toxics10080484
3. Briffa J, Sinagra E, Blundell R. Heavy metal pollution in the environment and their toxicological effects on humans. *Heliyon.* 2020 Sep 8;6(9):e04691. doi:10.1016/j.heliyon.2020.e04691
4. Tchounwou PB, Yedjou CG, Patlolla AK, Sutton DJ. Heavy metal toxicity and the environment. *Exp Suppl.* 2012;101:133-64. doi:10.1007/978-3-7643-8340-4_6
5. Witkowska D, Słowik J, Chilicka K. Heavy Metals and Human Health: Possible Exposure Pathways and the Competition for Protein Binding Sites. *Molecules.* 2021 Oct 7;26(19):6060. doi: 10.3390/molecules26196060.
6. Abd Elnabi MK, Elkaliny NE, Elyazied MM, Azab SH, Elkhalifa SA, Elmasry S, et al. Toxicity of Heavy Metals and Recent Advances in Their Removal: A Review. *Toxics.* 2023 Jul 3;11(7):580. doi:10.3390/toxics11070580
7. Aaseth JO. Toxic and Essential Metals in Human Health and Disease 2021. *Biomolecules.* 2022 Sep 26;12(10):1375. doi: 10.3390/biom12101375.
8. Jaishankar M, Tseten T, Anbalagan N, Mathew BB, Beeregowda KN. Toxicity, mechanism and health effects of some heavy metals. *Interdiscip Toxicol.* 2014;7(2):60-72. doi:10.2478/intox-2014-0009
9. Balali-Mood M, Naseri K, Tahergorabi Z, Khazdair MR, Sadeghi M. Toxic Mechanisms of Five Heavy Metals: Mercury, Lead, Chromium, Cadmium, and Arsenic. *Front Pharmacol.* 2021 Apr 13;12:643972. doi:10.3389/fphar.2021.643972

10. Tahir I, Alkheraije KA. A review of important heavy metals toxicity with special emphasis on nephrotoxicity and its management in cattle. *Front Vet Sci.* 2023 Mar 29;10:1149720. doi: 10.3389/fvets.2023.1149720
11. Rzymiski P, Tomczyk K, Rzymiski P, Poniedziałek B, Opala T, Wilczak M. Impact of heavy metals on the female reproductive system. *Ann Agric Environ Med.* 2015;22(2):259-64. doi: 10.5604/12321966.1152077.
12. López-Botella A, Sánchez R, Todolí-Torró JL, Gómez-Torres MJ, Velasco I, Acién M. A New Advanced and Validated Method for the Determination of Potentially Toxic Metals and Trace and Ultra-Trace Elements in Peritoneal Fluid to Assess the Health Risks of Women with Gynecological Pathologies. *Toxics.* 2023 Apr 23;11(5):399. doi:10.3390/toxics11050399
13. Obasi CN, Frazzoli C, Orisakwe OE. Heavy metals and metalloids exposure and in vitro fertilization: Critical concerns in human reproductive medicine. *Front Reprod Health.* 2022 Nov 21;4:1037379. doi:10.3389/frph.2022.1037379
14. Dubey I, Khan S, Kushwaha S. Developmental and reproductive toxic effects of exposure to microplastics: A review of associated signaling pathways. *Front Toxicol.* 2022 Aug 31;4:901798. doi:10.3389/ftox.2022.901798
15. Mohammad Hosseini S, Hossein Moshrefi A, Amani R, Vahid Razavimehr S, Hasan Aghajanikhah M, Sokouti Z, et al. Subchronic effects of different doses of Zinc oxide nanoparticle on reproductive organs of female rats: An experimental study. *Int J Reprod Biomed.* 2019 Mar 19;17(2):107-18. doi:10.18502/ijrm.v17i2.3988
16. Tomczyk KM, Rzymiski P, Wilczak M. Canonical analysis of concentrations of toxic metals in endometrium of women with gynecological disorders. *Ginekol Pol.* 2022;93(10):806-10. doi: 10.5603/GP.a2022.0088.
17. Ejaz U, Khan SM, Khalid N, Ahmad Z, Jehangir S, Fatima Rizvi Z, et al. Detoxifying the heavy metals: a multipronged study of tolerance strategies against heavy metals toxicity in plants. *Front Plant Sci.* 2023 May 12;14:1154571. doi:10.3389/fpls.2023.1154571

18. Mpongwana N, Rathilal S, Tetteh EK. Recovery Strategies for Heavy Metal-Inhibited Biological Nitrogen Removal from Wastewater Treatment Plants: A Review. *Microorganisms*. 2022;10(9):1834. doi:10.3390/microorganisms10091834
19. Mohd Mutalip SS, Ab-Rahim S, Rajikin MH. Vitamin E as an Antioxidant in Female Reproductive Health. *Antioxidants (Basel)*. 2018 Jan 26;7(2):22. doi:10.3390/antiox7020022
20. Md Amin NA, Sheikh Abdul Kadir SH, Arshad AH, Abdul Aziz N, Abdul Nasir NA, Ab Latip N. Are Vitamin E Supplementation Beneficial for Female Gynaecology Health and Diseases?. *Molecules*. 2022 Mar 15;27(6):1896. doi:10.3390/molecules27061896
21. Saeb AT, Al-Naqeb D. The Impact of Evolutionary Driving Forces on Human Complex Diseases: A Population Genetics Approach. *Scientifica (Cairo)*. 2016 May 30;2016:10. doi:10.1155/2016/2079704
22. Rezapour S, Siavash Moghaddam S, Nouri A, Khosravi Aqdam K. Urbanization influences the distribution, enrichment, and ecological health risk of heavy metals in croplands. *Sci Rep*. 2022 Mar 9;12(1):3868. doi:10.1038/s41598-022-07789-x
23. Ali H, Khan E, Ilahi I. Environmental chemistry and ecotoxicology of hazardous heavy metals: environmental persistence, toxicity, and bioaccumulation. *Journal of Chemistry*. 2019;2019:14. doi:10.1155/2019/6730305.673030510
24. Alengebawy A, Abdelkhalek ST, Qureshi SR, Wang MQ. Heavy metals and pesticides toxicity in agricultural soil and plants: ecological risks and human health implications. *Toxics*. 2021 Feb 25;9(3):42. doi:10.3390/toxics9030042
25. Merian E. Introduction on environmental chemistry and global cycles of chromium, nickel, cobalt beryllium, arsenic, cadmium and selenium, and their derivatives. *Toxicological and Environmental Chemistry*. 1984;8(1):9-38.
26. Khan MS, Javed M, Rehman MT, Urooj M, Ahmad MI. Heavy metal pollution and risk assessment by the battery of toxicity tests. *Sci Rep*. 2020 Oct 6;10(1):16593. doi: 10.1038/s41598-020-73468-4

27. Sayqal A, Ahmed OB. Advances in Heavy Metal Bioremediation: An Overview. *Appl Bionics Biomech.* 2021 Nov 11;2021:1609149. doi:10.1155/2021/1609149

28. Vural H , Meral A , Dogan SS. Changes in the Heavy Metal Levels in Highway Landscaping and Protective Effect of Vegetative Materials. *Applied and Environmental Soil Science.* 2021;2021:9. doi: 10.1155/2021/8884718

29. Arora NK, Chauhan R. Heavy metal toxicity and sustainable interventions for their decontamination. *Environmental Sustainability.* 2021;4:1-3. doi:10.1007/s42398-021-00164-y

30. Погорелов МВ, Бумейстер ВІ, Ткач ГФ, Бончев СД, Сікора ВЗ, Суходуб ЛФ, та ін. Макро- та мікроелементи (обмін, патологія та методи визначення): монографія. Суми: Вид-во СумДУ; 2010. 147 с.

31. Malmsten A, Dalin AM, Pettersson J, Persson I. Concentrations of cadmium, lead, arsenic, and some essential metals in wild boar from Sweden. *Eur J Wildl Res.* 2021;67(18):1-8. doi: 10.1007/s10344-021-01460-y

32. Pourret O, Hursthouse A. It's Time to Replace the Term "Heavy Metals" with "Potentially Toxic Elements" When Reporting Environmental Research. *Int J Environ Res Public Health.* 2019 Nov 13;16(22):4446. doi: 10.3390/ijerph16224446.

33. Ali H, Khan E. What are heavy metals? Long-standing controversy over the scientific use of the term ‘heavy metals’ – proposal of a comprehensive definition. *Toxicol Environ Chem.* 2018;100:6-19. doi:10.1080/02772248.2017.1413652.

34. Pourret O. On the necessity of banning the term “heavy metal” from the scientific literature. *Sustainability.* 2018;10:2879. doi: 10.3390/su10082879.

35. Zhao H, Wu Y, Lan X, Yang Y, Wu X, Du L. Comprehensive assessment of harmful heavy metals in contaminated soil in order to score pollution level. *Sci Rep.* 2022 Mar 3;12(1):3552. doi:10.1038/s41598-022-07602-9

36. Hongxue Q, Bingqing Z, Lihong L, Xiuling C, Jing A, Xiuping L. Heavy metal contamination and ecological risk assessment of the agricultural soil in

Shanxi Province, China. *R Soc open sci.* 2020: 7200538200538.
doi:10.1098/rsos.200538

37. Chibuike GU, Obiora SC. Heavy Metal Polluted Soils: Effect on Plants and Bioremediation Methods. *Applied and Environmental Soil Science.* 2014 Aug 12;2014:752708. doi:10.1155/2014/752708

38. Xia F, Zhu Y, Hu Bhen X, Li H, Shi K, Xu L. Pollution Characteristics, Spatial Patterns, and Sources of Toxic Elements in Soils from a Typical Industrial City of Eastern China. *Land.* 2021;10(11):1126. doi:10.3390/land10111126

39. Liu Y, Fei X, Zhang Z, Li Y, Tang J, Xiao R. Identifying the sources and spatial patterns of potentially toxic trace elements (PTEs) in Shanghai suburb soils using global and local regression models. *Environ Pollut.* 2020 Sep;264:114171. doi:10.1016/j.envpol.2020.114171

40. Priya AK, Muruganandam M, Ali SS, Kornaros M. Clean-Up of Heavy Metals from Contaminated Soil by Phytoremediation: A Multidisciplinary and Eco-Friendly Approach. *Toxics.* 2023 May;11(5):422. doi:10.3390/toxics11050422

41. Chen X, He HZ, Chen GK, Li HS. Effects of biochar and crop straws on the bioavailability of cadmium in contaminated soil. *Sci Rep.* 2020 Jun 12;10(1):9528. doi: 10.1038/s41598-020-65631-8

42. Suman J, Uhlik O, Viktorova J, Macek T. Phytoextraction of Heavy Metals: A Promising Tool for Clean-Up of Polluted Environment? *Front Plant Sci.* 2018 Oct 16;9:1476. doi:10.3389/fpls.2018.01476

43. Peco JD, Higuera P, Campos JA, Esbrí JM, Moreno MM, Battaglia-Brunet F, et al. Abandoned Mine Lands Reclamation by Plant Remediation Technologies. *Sustainability.* 2021 June;13(12):6555. doi:10.3390/su13126555

44. Rehman K, Fatima F, Waheed I, Akash MSH. Prevalence of exposure of heavy metals and their impact on health consequences. *J Cell Biochem.* 2018 Jan;119(1):157-84. doi:10.1002/jcb.26234

45. Kinuthia GK, Ngure V, Beti D, Lugalia R, Wangila A, Kamau L. Levels of heavy metals in wastewater and soil samples from open drainage channels in

Nairobi, Kenya: community health implication. *Sci Rep.* 2020 May 21;10(1):8434. doi:10.1038/s41598-020-65359-5

46. Hussain S, Habib-Ur-Rehman M, Khanam T, Sheer A, Kebin Z, Jianjun Y. Health Risk Assessment of Different Heavy Metals Dissolved in Drinking Water. *Int J Environ Res Public Health.* 2019 May 16;16(10):1737. doi:10.3390/ijerph16101737

47. Farkhondeh T, Naseri K, Esform A, Aramjoo H, Naghizadeh A. Drinking water heavy metal toxicity and chronic kidney diseases: a systematic review. *Rev Environ Health.* 2020 Nov 2;36(3):359-366. doi: 10.1515/reveh-2020-0110

48. Самчук АІ, Кураєва ІВ, Войтюк ЮЮ, Матвієнко ОВ, Вовк КВ. Форми знаходження важких металів у техногенно забруднених ґрунтах міських агломерацій. *Мінералогічний журнал.* 2016;38(4):66-74.

49. Lee NW, Wang HY, Du CL, Yuan TH, Chen CY, Yu CJ, et al. Air-polluted environmental heavy metal exposure increase lung cancer incidence and mortality: A population-based longitudinal cohort study. *Sci Total Environ.* 2022 Mar 1;810:152186. doi: 10.1016/j.scitotenv.2021.152186

50. Suvarapu LN, Baek SO. Determination of heavy metals in the ambient atmosphere. *Toxicol Ind Health.* 2017 Jan;33(1):79-96. doi:10.1177/0748233716654827

51. El-Khatib AA, Barakat NA, Youssef NA, Samir NA. Bioaccumulation of heavy metals air pollutants by urban trees. *Int J Phytoremediation.* 2020;22(2):210-22. doi:10.1080/15226514.2019.1652883

52. Yang S, Liu J, Bi X, Ning Y, Qiao S, Yu Q, Zhang J. Risks related to heavy metal pollution in urban construction dust fall of fast-developing Chinese cities. *Ecotoxicol Environ Saf.* 2020 Jul 1;197:110628. doi:10.1016/j.ecoenv.2020.110628

53. Manisalidis I, Stavropoulou E, Stavropoulos A, Bezirtzoglou E. Environmental and Health Impacts of Air Pollution: A Review. *Front Public Health.* 2020 Feb 20;8:14. doi:10.3389/fpubh.2020.00014

54. WHO. Air Pollution. WHO [Internet]. [cited 2022 Jan 17] Available from: <http://www.who.int/airpollution/en/>

55. Huang Y, Keller AA. Remediation of heavy metal contamination of sediments and soils using ligand-coated dense nanoparticles. *PLoS One*. 2020 Sep 30;15(9):e0239137. doi:10.1371/journal.pone.0239137

56. Perrelli M, Wu R, Liu DJ, Lucchini RG, Del Bosque-Plata L, Vergare MJ, et al. Heavy metals as risk factors for human diseases - a Bayesian network approach. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2022 Dec;26(24):9275-310. doi:10.26355/eurrev_202212_30681

57. Osae R, Nukpezah D, Darko DA, Koranteng SS, Mensah A. Accumulation of heavy metals and human health risk assessment of vegetable consumption from a farm within the Korle lagoon catchment. *Heliyon*. 2023 May 5;9(5):e16005. doi:10.1016/j.heliyon.2023.e16005

58. Engwa GA, Ferdinand PU, Nwalo FN, Unachukwu MN. Mechanism and Health Effects of Heavy Metal Toxicity in Humans. In: Karcioğlu O, Arslan B, editors. *Poisoning in the Modern World - New Tricks for an Old Dog?* [Internet]. London: IntechOpen; 2019 [cited 2022 Feb 3]. Available from: <https://www.intechopen.com/chapters/64762> doi: 10.5772/intechopen.82511

59. Diwa RR, Deocarís CC, Geraldo LD, Belo LP. Ecological and health risks from heavy metal sources surrounding an abandoned mercury mine in the island paradise of Palawan, Philippines. *Heliyon*. 2023 Apr 28;9(5):e15713. doi:10.1016/j.heliyon.2023.e15713

60. Bakulski KM, Seo YA, Hickman RC, Brandt D, Vadari HS, Hu H, et al. Heavy Metals Exposure and Alzheimer's Disease and Related Dementias. *J Alzheimers Dis*. 2020;76(4):1215-42. doi: 10.3233/JAD-200282

61. Li B, Xia M, Zorec R, Parpura V, Verkhratsky A. Astrocytes in heavy metal neurotoxicity and neurodegeneration. *Brain Res*. 2021 Feb 1;1752:147234. doi:10.1016/j.brainres.2020.147234

62. Scholefield M, Church SJ, Xu J, Patassini S, Roncaroli F, Hooper NM, et al. Widespread Decreases in Cerebral Copper Are Common to Parkinson's

Disease Dementia and Alzheimer's Disease Dementia. *Front Aging Neurosci.* 2021 Mar 3;13:641222. doi:10.3389/fnagi.2021.641222

63. Garza-Lombo C, Posadas Y, Quintanar L, Gonsebatt ME, Franco R. Neurotoxicity linked to dysfunctional metal ion homeostasis and xenobiotic metal exposure: Redox Signaling and Oxidative Stress. *Antioxid. Redox Signal.* 2018;28:1669-703. doi:10.1089/ars.2017.7272

64. Liu T, Liang X, Lei C, Huang Q, Song W, Fang R, et al. High-Fat Diet Affects Heavy Metal Accumulation and Toxicity to Mice Liver and Kidney Probably via Gut Microbiota. *Front Microbiol.* 2020 Jul 28;11:1604. doi:10.3389/fmicb.2020.01604

65. Li X, Gao Y, Zhang M, Zhang Y, Zhou M, Peng L, et al. In vitro lung and gastrointestinal bioaccessibility of potentially toxic metals in Pb-contaminated alkaline urban soil: The role of particle size fractions. *Ecotoxicol Environ Saf.* 2020 Mar 1;190:110151. doi:10.1016/j.ecoenv.2019.110151

66. Dos Santos NV, Vieira CLZ, Saldiva PHN, De André CDS, Mazzilli BP, de Fátima Andrade M, et al. Accumulation of trace element content in the lungs of Sao Paulo city residents and its correlation to lifetime exposure to air pollution. *Sci Rep.* 2022 Jun 30;12(1):11083. doi:10.1038/s41598-022-15048-2

67. Pietrzak S, Wójcik J, Baszuk P, Marciniak W, Wojtyś M, Dębniak T, et al. Influence of the Levels of Arsenic, Cadmium, Mercury and Lead on Overall Survival in Lung Cancer. *Biomolecules.* 2021 Aug 5;11(8):1160. doi:10.3390/biom11081160

68. Jalili C, Kazemi M, Cheng H, Mohammadi H, Babaei A, Taheri E, et al. Associations between exposure to heavy metals and the risk of chronic kidney disease: a systematic review and meta-analysis. *Crit Rev Toxicol.* 2021 Feb;51(2):165-82. doi:10.1080/10408444.2021.1891196

69. Aaseth J, Alexander J, Alehagen U, Tinkov A, Skalny A, Larsson A, Crisponi G, Nurchi VM. The Aging Kidney-As Influenced by Heavy Metal Exposure and Selenium Supplementation. *Biomolecules.* 2021 Jul 22;11(8):1078. doi: 10.3390/biom11081078.

70. Romaniuk A, Sikora V, Lyndin M, Smiyanov V, Sikora V, Lyndina Y, et al. The features of morphological changes in the urinary bladder under combined effect of heavy metal salts. *Interv Med Appl Sci.* 2017 Jun;9(2):105-11. doi:10.1556/1646.9.2017.2.09

71. Duan W, Xu C, Liu Q, Xu J, Weng Z, Zhang X, Basnet TB, Dahal M, Gu A. Levels of a mixture of heavy metals in blood and urine and all-cause, cardiovascular disease and cancer mortality: A population-based cohort study. *Environ Pollut.* 2020 Aug;263(Pt A):114630. doi: 10.1016/j.envpol.2020.114630.

72. Awadalla A, Mortada WI, Abol-Enein H, Shokeir AA. Correlation between blood levels of cadmium and lead and the expression of microRNA-21 in Egyptian bladder cancer patients. *Heliyon.* 2020 Dec 5;6(12):e05642. doi:10.1016/j.heliyon.2020.e05642

73. Abdel-Gawad M, Elsobky E, Shalaby MM, Abd-Elhameed M, Abdel-Rahim M, Ali-El-Dein B. Quantitative Evaluation of Heavy Metals and Trace Elements in the Urinary Bladder: Comparison Between Cancerous, Adjacent Non-cancerous and Normal Cadaveric Tissue. *Biol Trace Elem Res.* 2016 Dec;174(2):280-6. doi:10.1007/s12011-016-0724-1

74. Panaiyadiyan S, Quadri JA, Nayak B, Pandit S, Singh P, Seth A, et al. Association of heavy metals and trace elements in renal cell carcinoma: A case-controlled study. *Urol Oncol.* 2021 Dec 24:S1078-1439(21)00517-2. doi:10.1016/j.urolonc.2021.11.017

75. Wen WL, Wang CW, Wu DW, Chen SC, Hung CH, Kuo CH. Associations of Heavy Metals with Metabolic Syndrome and Anthropometric Indices. *Nutrients.* 2020 Sep 1;12(9):2666. doi:10.3390/nu12092666

76. Romaniuk A, Lyndin M, Lyndina Y, Sikora V, Hrintsova N, Timakova O, et al. Changes in the Hematopoietic System and Blood Under the Influence of Heavy Metal Salts Can Be Reduced with Vitamin E. *Turk Patoloji Derg.* 2018;34(1):73-81. doi:10.5146/tjpath.2017.01412

77. Giani F, Masto R, Trovato MA, Malandrino P, Russo M, Pellegriti G, et al. Heavy Metals in the Environment and Thyroid Cancer. *Cancers (Basel)*. 2021 Aug 12;13(16):4052. doi:10.3390/cancers13164052
78. Rami Y, Ebrahimpour K, Maghami M, Shoshtari-Yeganeh B, Kelishadi R. The Association Between Heavy Metals Exposure and Sex Hormones: a Systematic Review on Current Evidence. *Biol Trace Elem Res*. 2022 Aug;200(8):3491-510. doi:10.1007/s12011-021-02947-0
79. Jia X, Zhang L, Zhao J, Ren M, Li Z, Wang J, et al. Associations between endocrine-disrupting heavy metals in maternal hair and gestational diabetes mellitus: A nested case-control study in China. *Environ Int*. 2021 Dec;157:106770. doi:10.1016/j.envint.2021.106770
80. Rana SV. Perspectives in endocrine toxicity of heavy metals-a review. *Biol Trace Elem Res*. 2014 Jul;160(1):1-14. doi:10.1007/s12011-014-0023-7
81. Alkaladi A, Afifi M, Ali H, Saddick S. Hormonal and molecular alterations induced by sub-lethal toxicity of zinc oxide nanoparticles on *Oreochromis niloticus*. *Saudi J Biol Sci*. 2020 May;27(5):1296-301. doi:10.1016/j.sjbs.2020.01.010
82. Yang J, Ma Z. Research progress on the effects of nickel on hormone secretion in the endocrine axis and on target organs. *Ecotoxicol Environ Saf*. 2021 Apr 15;213:112034. doi:10.1016/j.ecoenv.2021.112034
83. Dutta S, Gorain B, Choudhury H, Roychoudhury S, Sengupta P. Environmental and occupational exposure of metals and female reproductive health. *Environ Sci Pollut Res Int*. 2022 Sep;29(41):62067-92. doi:10.1007/s11356-021-16581-9
84. Chabchoub I, Nouioui MA, Araoud M, Mabrouk M, Amira D, Ben Aribia MH, et al. Effects of lead, cadmium, copper and zinc levels on the male reproductive function. *Andrologia*. 2021 Oct;53(9):e14181. doi:10.1111/and.14181
85. López-Botella A, Velasco I, Acién M, Sáez-Espinosa P, Todolí-Torró JL, Sánchez-Romero R, et al. Impact of Heavy Metals on Human Male Fertility-

An Overview. *Antioxidants* (Basel). 2021 Sep 15;10(9):1473. doi:10.3390/antiox10091473

86. Bhardwaj JK, Paliwal A, Saraf P. Effects of heavy metals on reproduction owing to infertility. *J Biochem Mol Toxicol*. 2021 Aug;35(8):e22823. doi:10.1002/jbt.22823

87. Lin J, Lin X, Qiu J, You X, Xu J. Association between heavy metals exposure and infertility among American women aged 20-44 years: A cross-sectional analysis from 2013 to 2018 NHANES data. *Front Public Health*. 2023;11:1122183. doi:10.3389/fpubh.2023.1122183

88. Nguyen HD, Oh H, Kim MS. Effects of heavy metals on hypertension during menopause: a Korean community-based cross-sectional study. *Menopause*. 2021 Sep 27;28(12):1400-9. doi: 10.1097/GME.0000000000001865

89. Canipari R, De Santis L, Cecconi S. Female Fertility and Environmental Pollution. *Int J Environ Res Public Health*. 2020 Nov 26;17(23):8802. doi:10.3390/ijerph17238802

90. Massányi P, Massányi M, Madeddu R, Stawarz R, Lukáč N. Effects of Cadmium, Lead, and Mercury on the Structure and Function of Reproductive Organs. *Toxics*. 2020 Oct 29;8(4):94. doi:10.3390/toxics8040094

91. Martínez MÁ, Marquès M, Salas-Huetos A, Babio N, Domingo JL, Salas-Salvadó J. Lack of association between endocrine disrupting chemicals and male fertility: A systematic review and meta-analysis. *Environ Res*. 2023 Jan 15;217:114942. doi:10.1016/j.envres.2022.114942

92. Peretz J, Vrooman L, Ricke WA, Hunt PA, Ehrlich S, Hauser R, et al. Bisphenol a and reproductive health: update of experimental and human evidence, 2007-2013. *Environ Health Perspect*. 2014 Aug;122(8):775-86.

93. Zheng F, Gonçalves FM, Abiko Y, Li H, Kumagai Y, Aschner M. Redox toxicology of environmental chemicals causing oxidative stress. *Redox Biol*. 2020 Jul;34:101475. doi:10.1016/j.redox.2020.101475

94. Paithankar JG, Saini S, Dwivedi S, Sharma A, Chowdhuri DK. Heavy metal associated health hazards: An interplay of oxidative stress and signal

transduction. *Chemosphere.* 2021 Jan;262:128350.
doi:10.1016/j.chemosphere.2020.128350

95. Phaniendra A, Jestadi DB, Periyasamy L. Free radicals: properties, sources, targets, and their implication in various diseases. *Indian J Clin Biochem.* 2015;30(1):11-26. doi:10.1007/s12291-014-0446-0

96. Sharifi-Rad M, Anil Kumar NV, Zucca P, Varoni EM, Dini L, Panzarini E, et al. Lifestyle, Oxidative Stress, and Antioxidants: Back and Forth in the Pathophysiology of Chronic Diseases. *Front Physiol.* 2020 Jul 2;11:694. doi:10.3389/fphys.2020.00694

97. Bazzi W, Abou Fayad AG, Nasser A, Haraoui LP, Dewachi O, Abou-Sitta G, et al. Heavy Metal Toxicity in Armed Conflicts Potentiates AMR in *A. baumannii* by Selecting for Antibiotic and Heavy Metal Co-resistance Mechanisms. *Front Microbiol.* 2020 Feb 3;11:68. doi:10.3389/fmicb.2020.00068

98. Huang Z, Lu Q, Wang J, Chen X, Mao X, He Z. Inhibition of the bioavailability of heavy metals in sewage sludge biochar by adding two stabilizers. *PLoS One.* 2017 Aug 23;12(8):e0183617. doi:10.1371/journal.pone.0183617

99. Furtak G, Kozłowski M, Kwiatkowski S, Cymbaluk-Płoska A. The Role of Lead and Cadmium in Gynecological Malignancies. *Antioxidants (Basel).* 2022 Dec 15;11(12):2468. doi:10.3390/antiox11122468

100. Michalczyk K, Kapczuk P, Witczak G, Bosiacki M, Kurzawski M, Chlubek D, et al. The Associations between Metalloestrogens, GSTP1, and SLC11A2 Polymorphism and the Risk of Endometrial Cancer. *Nutrients.* 2022 Jul 27;14(15):3079. doi:10.3390/nu14153079

101. Alzamil L, Nikolakopoulou K, Turco MY. Organoid systems to study the human female reproductive tract and pregnancy. *Cell Death Differ.* 2021;28(1):35-51. doi:10.1038/s41418-020-0565-5

102. Cunha GR, Sinclair A, Ricke WA, Robboy SJ, Cao M, Baskin LS. Reproductive tract biology: Of mice and men. *Differentiation.* 2019;110:49-63. doi:10.1016/j.diff.2019.07.004

103. Weiss DA, Rodriguez E Jr, Cunha T, Menshenina J, Barcellos D, Chan LY, et al. Morphology of the external genitalia of the adult male and female mice as an endpoint of sex differentiation. *Mol Cell Endocrinol*. 2012 May 6;354(1-2):94-102. doi:10.1016/j.mce.2011.08.009
104. Vannuccini S, Clifton VL, Fraser IS, Taylor HS, Critchley H, Giudice LC, et al. Infertility and reproductive disorders: impact of hormonal and inflammatory mechanisms on pregnancy outcome. *Hum Reprod Update*. 2016 Jan-Feb;22(1):104-15. doi:10.1093/humupd/dmv044
105. Elshazly MO, El-Rahman SSA, Hamza DA, Ali ME. Pathological and bacteriological studies on reproductive tract abnormalities of she-camels (*Camelus dromedarius*), emphasizing on zoonotic importance. *J Adv Vet Anim Res*. 2020;7(4):633-46. doi:10.5455/javar.2020.g462
106. Cunha GR, Kurita T, Cao M, Shen J, Robboy S, Baskin L. Molecular mechanisms of development of the human fetal female reproductive tract. *Differentiation*. 2017;97:54-72. doi:10.1016/j.diff.2017.07.003
107. Malik M, Roh M, England SK. Uterine contractions in rodent models and humans. *Acta Physiol (Oxf)*. 2021;231(4):e13607. doi:10.1111/apha.13607
108. Brüggmann D, Ouassou K, Klingelhöfer D, Bohlmann MK, Jaque J, Groneberg DA. Endometrial cancer: mapping the global landscape of research. *J Transl Med*. 2020;18(1):386. doi:10.1186/s12967-020-02554-y
109. Drizi A, Djokovic D, Laganà AS, van Herendael B. Impaired inflammatory state of the endometrium: a multifaceted approach to endometrial inflammation. Current insights and future directions. *Prz Menopauzalny*. 2020;19(2):90-100. doi:10.5114/pm.2020.97863
110. Critchley HOD, Maybin JA, Armstrong GM, Williams ARW. Physiology of the Endometrium and Regulation of Menstruation. *Physiol Rev*. 2020 Jul 1;100(3):1149-79. doi:10.1152/physrev.00031.2019
111. Jain V, Chodankar RR, Maybin JA, Critchley HOD. Uterine bleeding: how understanding endometrial physiology underpins menstrual health. *Nat Rev Endocrinol*. 2022 May;18(5):290-308. doi:10.1038/s41574-021-00629-4

112. Sikora K, Lyndin M, Hyriavenko N, Lyndina Yu, Sikora V, Romaniuk A. Morphological features of the rat uterus. *Pol Merkur Lekarski*. 2021;XLIX(294):420-5.
113. Ajayi AF, Akhigbe RE. Staging of the estrous cycle and induction of estrus in experimental rodents: an update. *Fertil Res Pract*. 2020 Mar 14;6:5. doi:10.1186/s40738-020-00074-3
114. Zhou Y, Yan H, Liu W, Hu C, Zhou Y, Sun R, et al. A multi-tissue transcriptomic landscape of female mice in estrus and diestrus provides clues for precision medicine. *Front Cell Dev Biol*. 2022 Dec 16;10:983712. doi:10.3389/fcell.2022.983712
115. Robert H, Ferguson L, Reins O, Greco T, Prins ML, Folkerts M. Rodent Estrous Cycle Monitoring Utilizing Vaginal Lavage: No Such Thing As a Normal Cycle. *J Vis Exp*. 2021 Aug 30;(174):10.3791/62884. doi:10.3791/62884
116. Wu JX, Lin S, Kong SB. Psychological Stress and Functional Endometrial Disorders: Update of Mechanism Insights. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2021 Aug 3;12:690255. doi: 10.3389/fendo.2021.690255.
117. An SM, Kim SS, Kim J, Park MN, Lee JE, Cho SK, et al. Expression of reproductive hormone receptors and contraction-associated genes in porcine uterus during the estrous cycle. *Mol Med Rep*. 2017 Jun;15(6):4176-84. doi:10.3892/mmr.2017.6518
118. Sato J, Nasu M, Tsuchitani M. Comparative histopathology of the estrous or menstrual cycle in laboratory animals. *J Toxicol Pathol*. 2016;29(3):155-62. doi:10.1293/tox.2016-0021
119. Hoare BS, Khan YS. Anatomy, Abdomen and Pelvis: Female Internal Genitals [Internet]. In: StatPearls. Treasure Island (FL); 2022 [cited 2023 Jan 25]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK554601/>
120. Favre-Inhofer A, Carbonnel M, Domert J, Cornet N, Chastant S, Coscas R, et al. Involving Animal Models in Uterine Transplantation. *Front Surg*. 2022 Feb 23;9:830826. doi:10.3389/fsurg.2022.830826

121. Cooke PS, Spencer TE, Bartol FF, Hayashi K. Uterine glands: development, function and experimental model systems. *Mol Hum Reprod*. 2013 Sep;19(9):547-58. doi:10.1093/molehr/gat031.44
122. Maynard R, Downes N. *Anatomy and Histology of the Laboratory Rat in Toxicology and Biomedical Research*. Academic Press, 2019: 224–7. doi:10.1016/C2016-0-02030-2
123. Preston AM, Lindsay LA, Murphy CR. Desmosomes in uterine epithelial cells decrease at the time of implantation: an ultrastructural and morphometric study. *J Morphol*. 2006;267(1):103–8.
124. Constantinou PE, Danysh BP, Dharmaraj N, Carson DD. Transmembrane mucins as novel therapeutic targets. *Expert Rev Endocrinol Metab*. 2011;6(6):835-48. doi:10.1586/eem.11.70
125. Shih HC, Shiozawa T, Miyamoto T, Kashima H, Feng YZ, Kurai M, et al. Immunohistochemical expression of E-cadherin and beta-catenin in the normal and malignant human endometrium: an inverse correlation between E-cadherin and nuclear beta-catenin expression. *Anticancer Res*. 2004 Nov-Dec;24(6):3843-50.
126. Mesa AM, Mao J, Medrano TI, Bivens NJ, Jurkevich A, Tuteja G, et al. Spatial transcriptomics analysis of uterine gene expression in enhancer of zeste homolog 2 conditional knockout mice†. *Biol Reprod*. 2021 Nov 15;105(5):1126-39. doi:10.1093/biolre/ioab147
127. Murata T, Narita K, Ichimaru T. Rat uterine oxytocin receptor and estrogen receptor α and β mRNA levels are regulated by estrogen through multiple estrogen receptors. *J Reprod Dev*. 2014;60(1):55-61. doi:10.1262/jrd.2012-139
128. Koli S, Prakash A, Choudhury S, Mandil R, Garg SK. Calcium Channels, Rho-Kinase, Protein Kinase-C, and Phospholipase-C Pathways Mediate Mercury Chloride-Induced Myometrial Contractions in Rats. *Biol Trace Elem Res*. 2019 Feb;187(2):418-24. doi:10.1007/s12011-018-1379-x
129. Iwanaga R, Orlicky DJ, Arnett J, Guess MK, Hurt KJ, Connell KA. Comparative histology of mouse, rat, and human pelvic ligaments. *Int Urogynecol J*. 2016 Nov;27(11):1697-704. doi:10.1007/s00192-016-3008-6

130. Santini S, Boore JL, Meyer A. Evolutionary conservation of regulatory elements in vertebrate Hox gene clusters. *Genome Res.* 2003 Jun;13(6A):1111-22. doi:10.1101/gr.70050
131. Camilleri C, Buskmiller C, Sammut S. Pregnancy-induced long-term uterine vascular remodeling in the rat. *Reprod Biol.* 2021 Mar;21(1):100466. doi:10.1016/j.repbio.2020.100466
132. Soma-Pillay P, Nelson-Piercy C, Tolppanen H, Mebazaa A. Physiological changes in pregnancy. *Cardiovasc J Afr.* 2016 Mar-Apr;27(2):89-94. doi:10.5830/CVJA-2016-021
133. Smith GN, Louis JM, Saade GR. Pregnancy and the Postpartum Period as an Opportunity for Cardiovascular Risk Identification and Management. *Obstet Gynecol.* 2019 Oct;134(4):851-62. doi:10.1097/AOG.0000000000003363
134. Zhang D, Yang Y, Liang C, Liu J, Wang H, Liu S, et al. poFUT1 promotes uterine angiogenesis and vascular remodeling via enhancing the O-fucosylation on uPA. *Cell Death Dis.* 2019 Oct 10;10(10):775. doi:10.1038/s41419-019-2005-3
135. Nair AB, Jacob S. A simple practice guide for dose conversion between animals and human. *J Basic Clin Pharm.* 2016 Mar;7(2):27-31. doi:10.4103/0976-0105.177703
136. Asbaghi O, Sadeghian M, Nazarian B, Sarreshtedari M, Mozaffari-Khosravi H, et al. The effect of vitamin E supplementation on selected inflammatory biomarkers in adults: a systematic review and meta-analysis of randomized clinical trials. *Sci Rep.* 2020 Oct 14;10(1):17234. doi:10.1038/s41598-020-73741-6
137. Percie du Sert N, Hurst V, Ahluwalia A, Alam S, Avey MT, Baker M, et al. The ARRIVE guidelines 2.0: Updated guidelines for reporting animal research. *PLoS Biol.* 2020 Jul 14;18(7):e3000410. doi:10.1371/journal.pbio.3000410

138. Hubrecht RC, Carter E. The 3Rs and Humane Experimental Technique: Implementing Change. *Animals (Basel)*. 2019 Sep 30;9(10):754. doi:10.3390/ani9100754

139. Stephanie M, Venkatesan S. Comparative Study of Metachromatic Staining Methods in Assessing the Exfoliative Cell Types During Oestrous Cycle in Sprague-Dawley Laboratory Rats. *Int. J. Morphol.* 2018;36(3):962-8. doi:10.4067/S0717-95022018000300962

140. Wick MR. The hematoxylin and eosin stain in anatomic pathology – An often-neglected focus of quality assurance in the laboratory. *Semin Diagn Pathol.* 2019;36(5):303-11. doi:10.1053/j.semdp.2019.06.003

141. Багрій ММ, Діброва ВА, Попадинець ОГ, Грищук МІ. Методики морфологічних досліджень: монографія. Вінниця: Нова книга; 2016. 328 с.

142. Кузенко ЄВ, Романюк АМ, Скиданенко МС, Линдін МС, Сікора ВВ, Піддубний АМ, Москаленко РА, Сікора КО, Дяченко ОО, Линдіна ЮМ, Покотило ВМ, Гирявенко НІ, Карпенко ЛІ, Коломієць ОО, Кузенко ОВ, винахідники; Сумський державний університет МОН України, патентовласник. Пристрій для гістологічного та гістохімічного забарвлення препаратів. Патент України на корисну модель № 144872. 2020 Жов 26, Бюл. № 20. 6 с.

143. Luo Y, Wang S. Urban living and chronic diseases in the presence of economic growth: Evidence from a long-term study in southeastern China. *Front Public Health.* 2022 Dec 19;10:1042413. doi:10.3389/fpubh.2022.1042413

144. Chu EW, Karr JR. Environmental Impact: Concept, Consequences, Measurement. *Reference Module in Life Sciences.* 2017 Oct 31:B978-0-12-809633-8.02380-3. doi: 10.1016/B978-0-12-809633-8.02380-3

145. Gupta A, Sharma V, Sharma K, Kumar V, Choudhary S, Mankotia P, et al. A Review of Adsorbents for Heavy Metal Decontamination: Growing Approach to Wastewater Treatment. *Materials (Basel)*. 2021 Aug 20;14(16):4702. doi:10.3390/ma14164702

146. Lu L, Xie Y, Yang Z, Chen B. Sustainable decontamination of heavy metal in wastewater and soil with novel rectangular wave asymmetrical alternative current electrochemistry. *J Hazard Mater.* 2023 Jan 15;442:130021. doi:10.1016/j.jhazmat.2022.130021.

147. Hashemi M, Rajabi S, Eghbalian M, Suliburska J, Nasab H. Demographic and anthropometric characteristics and their effect on the concentration of heavy metals (arsenic, lead, chromium, zinc) in children and adolescents. *Heliyon.* 2023 Feb 9;9(2):e13621. doi:10.1016/j.heliyon.2023.e13621

148. Masri S, LeBrón AMW, Logue MD, Valencia E, Ruiz A, Reyes A, et al. Risk assessment of soil heavy metal contamination at the census tract level in the city of Santa Ana, CA: implications for health and environmental justice. *Environ Sci Process Impacts.* 2021 Jun 24;23(6):812-830. doi:10.1039/d1em00007a

149. Huo C, He L, Yu T, Ji X, Li R, Zhu S, et al. The Superoxide Dismutase Gene Family in *Nicotiana tabacum*: Genome-Wide Identification, Characterization, Expression Profiling and Functional Analysis in Response to Heavy Metal Stress. *Front Plant Sci.* 2022 May 6;13:904105. doi:10.3389/fpls.2022.904105

150. Szebesczyk A, Słowik J. Heat shock proteins and metal ions - Reaction or interaction? *Comput Struct Biotechnol J.* 2023 May 24;21:3103-8. doi:10.1016/j.csbj.2023.05.024

151. Guarnotta V, Amodei R, Frasca F, Aversa A, Giordano C. Impact of Chemical Endocrine Disruptors and Hormone Modulators on the Endocrine System. *Int J Mol Sci.* 2022 May 20;23(10):5710. doi:10.3390/ijms23105710

152. Rzymiski P, Niedzielski P, Rzymiski P, Tomczyk K, Kozak L, Poniedziałek B. Metal accumulation in the human uterus varies by pathology and smoking status. *Fertil Steril.* 2016 Jun;105(6):1511-8.e3. doi:10.1016/j.fertnstert.2016.02.006

153. Сікора КО. Морфометричні зміни товщини матки щурів після 30 днів впливу солей важких металів. *Східноукраїнський медичний журнал.* 2022;10(3):274-82. doi:10.21272/eumj.2022;10(3):274-282

154. Sikora K, Lyndina Y, Awuah WA, Abdul-Rahman T, Chyzhma R, Hyriavenko N, et al. Microelement imbalance in the rat uterus after short-term heavy metals exposure. *Fiziol Zh.* 2022;68(6):12-7. doi:10.15407/fz68.06.012
155. Sikora K, Lyndina Y, Hyriavenko N, Awuah AW, Abdul-Rahman T, Lyndin M, et al. Heavy metals effect on estrogen and progesterone receptors expression in the rat uterus. *Azerbaijan medical journal.* 2022;4:164-9. doi:10.34921/amj.2022.4.026
156. Sikora K, Lyndin M, Sikora V, Hyriavenko N, Piddubnyi A, Lyndina Y, et al. Heavy metals effect on the rat uterus and effectiveness of vitamin E treatment. *JJBS.* 2023;16(3):455-65. doi: 10.54319/jjbs/160309.
157. Liu FT, Wu Z, Yan J, Norman RJ, Li R. The Potential Role of Growth Hormone on the Endometrium in Assisted Reproductive Technology. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2020 Feb 14;11:49. doi: 10.3389/fendo.2020.00049.
158. Giri SK, Nayak BL, Mohapatra J. Thickened Endometrium: When to Intervene? A Clinical Conundrum. *J Obstet Gynaecol India.* 2021 Jun;71(3):216-225. doi:10.1007/s13224-020-01415-4
159. Nasiadek M, Danilewicz M, Sitarek K, Świątkowska E, Daragó A, Stragierowicz J, et al. The effect of repeated cadmium oral exposure on the level of sex hormones, estrous cyclicity, and endometrium morphometry in female rats. *Environ Sci Pollut Res Int.* 2018 Oct;25(28):28025-28038. doi: 10.1007/s11356-018-2821-5.
160. Nasiadek M, Danilewicz M, Klimczak M, Stragierowicz J, Kilanowicz A. Subchronic Exposure to Cadmium Causes Persistent Changes in the Reproductive System in Female Wistar Rats. *Oxid Med Cell Longev.* 2019 Dec 17;2019:6490820. doi:10.1155/2019/6490820
161. Chu EW, Karr JR. Environmental Impact: Concept, Consequences, Measurement. *Reference Module in Life Sciences.* 2017 Oct 31:B978-0-12-809633-8.02380-3. doi: 10.1016/B978-0-12-809633-8.02380-3

162. Höfer N, Diel P, Wittsiepe J, Wilhelm M, Degen GH. Dose- and route-dependent hormonal activity of the metalloestrogen cadmium in the rat uterus. *Toxicol. Lett.* 2009;191(2-3):123-31. doi:10.1016/j.toxlet.2009.08.014

163. Meléndez-García N, García-Ibarra F, Bizarro-Nevarés P, Rojas-Lemus M, López-Valdez N, González-Villalva A, et al. Changes in Ovarian and Uterine Morphology and Estrous Cycle in CD-1 Mice After Vanadium Inhalation. *International Journal of Toxicology.* 2020;39(1):20-29. doi:10.1177/1091581819894529

164. Li Q, Liu H, Alattar M, Jiang S, Han J, Ma Y, et al. The preferential accumulation of heavy metals in different tissues following frequent respiratory exposure to PM_{2.5} in rats. *Sci Rep.* 2015 Nov 19;5:16936. doi:10.1038/srep16936.

165. Ehis-Eriakha C, Ekwuabu C. Impact of Heavy Metal Pollution on the Biotic and Abiotic Components of the Environment. *South Asian Journal of Research in Microbiology.* 2022;13(3):38-54. doi:10.9734/SAJRM/2022/v13i330302

166. Tahity T, Islam MRU, Bhuiyan NZ, Choudhury TR, Yu J, Noman MA, et al. Heavy Metals Accumulation in Tissues of Wild and Farmed Barramundi from the Northern Bay of Bengal Coast, and Its Estimated Human Health Risks. *Toxics.* 2022 Jul 22;10(8):410. doi:10.3390/toxics10080410

167. Balzani P, Kouba A, Tricarico E, Kourantidou M, Haubrock PJ. Metal accumulation in relation to size and body condition in an all-alien species community. *Environ Sci Pollut Res Int.* 2022 Apr;29(17):25848-25857. doi:10.1007/s11356-021-17621-0.

168. Karahan F. Evaluation of Trace Element and Heavy Metal Levels of Some Ethnobotanically Important Medicinal Plants Used as Remedies in Southern Turkey in Terms of Human Health Risk. *Biol Trace Elem Res.* 2023 Jan;201(1):493-513. doi: 10.1007/s12011-022-03299-z.

169. Mikulewicz M, Chojnacka K, Kawala B, Gredes T. Trace Elements in Living Systems: From Beneficial to Toxic Effects. *Biomed Res Int.* 2017;2017:8297814. doi:10.1155/2017/8297814

170. Hamid A, Riaz, H, Akhtar S, Ahmad SR. Heavy Metal Contamination in Vegetables, Soil and Water and Potential Health Risk Assessment. *Am-Euras J Agric Environ Sci.* 2016;16(4):786-94. doi:10.5829/idosi.ajeaes.2016.16.4.103149

171. Al-Attar AM. Antioxidant effect of vitamin E treatment on some heavy metals-induced renal and testicular injuries in male mice. *Saudi J Biol Sci.* 2011 Jan;18(1):63-72. doi: 10.1016/j.sjbs.2010.10.004.

172. Sahiti H, Bislimi K, Rexhepi A, Dalo E. Metal Accumulation and Effect of Vitamin C and E in Accumulated Heavy Metals in Different Tissues in Common Carp (*Cyprinus carpio*) Treated with Heavy Metals. *Polish Journal of Environmental Studies.* 2020;29(1):799-805. doi:10.15244/pjoes/103354

173. Dixon D, Alison R, Bach U, Colman K, Foley GL, Harleman JH, et al. Nonproliferative and proliferative lesions of the rat and mouse female reproductive system. *J Toxicol Pathol.* 2014;27(3-4 Suppl):1S-107S. doi:10.1293/tox.27.1S

174. Nakade UP, Garg SK, Sharma A, Choudhury S, Yadav RS, Gupta K, et al. Lead-induced adverse effects on the reproductive system of rats with particular reference to histopathological changes in uterus. *Indian J Pharmacol.* 2015 Jan-Feb;47(1):22-6. doi:10.4103/0253-7613.150317

175. Shanthi DT, Gopinath P, Kumar KD, Iyer RP, Kesavaramanujam R, Karunakaran GK. Evaluating the Contribution of Oocyte, Sperm, and Uterus in Determining the Outcome of Intracytoplasmic Sperm Injection - A Retrospective Observational Comparative Study on Intracytoplasmic Sperm Injection using Own Oocytes and Donor Oocytes. *J Hum Reprod Sci.* 2021 Jul-Sep;14(3):281-287. doi:10.4103/jhrs.jhrs_20_21

176. Hajam YA, Rani R, Ganie SY, Sheikh TA, Javaid D, Qadri SS, et al. Oxidative Stress in Human Pathology and Aging: Molecular Mechanisms and Perspectives. *Cells.* 2022 Feb 5;11(3):552. doi:10.3390/cells11030552

177. Elshal EB. Hazards of nicotine on the uterus of albino rat and the possible ameliorative role of human chorionic gonadotropin (hCG). *Egyptian Journal of Anatomy*. 2017;40(2):237-52. doi:10.21608/EJANA.2018.16903

178. Chatterjee A, Chatterji U. Arsenic abrogates the estrogen-signaling pathway in the rat uterus. *Reprod Biol Endocrinol*. 2010 Jul 2;8:80. doi:10.1186/1477-7827-8-80

179. Diantini NSE, Soeharto S and Wiyasa WA. The effect of lead acetate administration to the uterine malondialdehyde level and endometrial thickness in albino rats (*Rattus norvegicus*). *Med J Indones*. 2018;27:150–4. doi:10.13181/mji.v27i3.2031

180. Doncova V, Lukacinova A, Benacka R, Nistiar F. Effect of Low-Dose Exposure to Toxic Heavy Metals on The Reproductive Health of Rats A Multigenerational Study. *Folia Veterinaria*. 2019;63(1):64–71. doi:10.2478/fv-2019-0010

181. Lukacinova A, Benacka R, Sedlakova E, Lovasova E, Nistiar F. Multigenerational lifetime low-dose exposure to heavy metals on selected reproductive parameters in rats. *J Environ Sci Health A Tox Hazard Subst Environ Eng*. 2012;47(9):1280-7. doi:10.1080/10934529.2012.672132

182. Yılmaz BK, Evliyaoğlu Ö, Yorgancı A, Özyer Ş, Üstün YE. Serum concentrations of heavy metals in women with endometrial polyps. *J Obstet Gynaecol*. 2020 May;40(4):541-545. doi: 10.1080/01443615.2019.1634022

183. Zhang Y, Lu Y, Ma H, Xu Q, Wu X. Combined Exposure to Multiple Endocrine Disruptors and Uterine Leiomyomata and Endometriosis in US Women. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2021 Aug 20;12:726876. doi:10.3389/fendo.2021.726876

184. Huang CH, Hsieh CY, Wang CW, Tu HP, Chen SC, Hung CH, et al. Associations and Interactions between Heavy Metals with White Blood Cell and Eosinophil Count. *Int J Med Sci*. 2022 Jan 9;19(2):331-337. doi:10.7150/ijms.68945

185. Wen J, Giri M, Xu L, Guo S. Association between Exposure to Selected Heavy Metals and Blood Eosinophil Counts in Asthmatic Adults: Results from NHANES 2011-2018. *J Clin Med.* 2023 Feb 15;12(4):1543. doi:10.3390/jcm12041543
186. Sapmaz-Metin M, Topcu-Tarladacalisir Y, Kurt-Omurlu I, Karaoz Weller B, Unsal-Atan S. A morphological study of uterine alterations in mice due to exposure to cadmium. *Biotech Histochem.* 2017;92(4):264-273. doi:10.1080/10520295.2017.1305500
187. Olarewaju E, Obeng-Gyasi E. Cadmium, Lead, Chronic Physiological Stress and Endometrial Cancer: How Environmental Policy Can Alter the Exposure of At-Risk Women in the United States. *Healthcare (Basel).* 2023 Apr 29;11(9):1278. doi:10.3390/healthcare11091278
188. Osuchowska-Grochowska I, Blicharska E, Gogacz M, Nogalska A, Winkler I, Szopa A, et al. Brief Review of Endometriosis and the Role of Trace Elements. *Int J Mol Sci.* 2021 Oct 14;22(20):11098. doi:10.3390/ijms222011098
189. Mancini A, Silvestrini A. Oxidative Stress in Metabolic and Endocrine Diseases: Basic and Translational Aspects. *Int J Mol Sci.* 2022 Apr 14;23(8):4346. doi:10.3390/ijms23084346
190. Sahoo DK, Chainy GBN. Hormone-linked redox status and its modulation by antioxidants. *Vitam Horm.* 2023;121:197-246. doi:10.1016/bs.vh.2022.10.007
191. Smovršnik T, Virant-Klun I, Pinter B. Heavy Metals and Essential Elements in Association with Oxidative Stress in Women with Polycystic Ovary Syndrome-A Systematic Review. *Antioxidants (Basel).* 2023 Jul 7;12(7):1398. doi:10.3390/antiox12071398
192. Chaudhary P, Janmeda P, Docea AO, Yeskaliyeva B, Abdull Razis AF, Modu B, et al. Oxidative stress, free radicals and antioxidants: potential crosstalk in the pathophysiology of human diseases. *Front Chem.* 2023 May 10;11:1158198. doi: 10.3389/fchem.2023.1158198

193. Haidar Z, Fatema K, Shoily SS, Sajib AA. Disease-associated metabolic pathways affected by heavy metals and metalloid. *Toxicol Rep.* 2023 Apr 24;10:554-570. doi: 10.1016/j.toxrep.2023.04.010.

194. Schöneich C. Primary Processes of Free Radical Formation in Pharmaceutical Formulations of Therapeutic Proteins. *Biomolecules.* 2023 Jul 17;13(7):1142. doi:10.3390/biom13071142

195. Kumar A, Khushboo, Pandey R, Sharma B. Modulation of Superoxide Dismutase Activity by Mercury, Lead, and Arsenic. *Biol Trace Elem Res.* 2020 Aug;196(2):654-61. doi:10.1007/s12011-019-01957-3

196. Rosa AC, Corsi D, Cavi N, Bruni N, Dosio F. Superoxide Dismutase Administration: A Review of Proposed Human Uses. *Molecules.* 2021 Mar 25;26(7):1844. doi:10.3390/molecules26071844

197. Xu J, Su X, Burley SK, Zheng XFS. Nuclear SOD1 in Growth Control, Oxidative Stress Response, Amyotrophic Lateral Sclerosis, and Cancer. *Antioxidants (Basel).* 2022 Feb 21;11(2):427. doi:10.3390/antiox11020427

198. Agarwal A, Aponte-Mellado A, Premkumar BJ, Shaman A, Gupta S. The effects of oxidative stress on female reproduction: a review. *Reprod Biol Endocrinol.* 2012 Jun 29;10:49. doi:10.1186/1477-7827-10-49

199. Vašková J, Klepcová Z, Špaková I, Urdzík P, Štofilová J, Bertková I, et al. The Importance of Natural Antioxidants in Female Reproduction. *Antioxidants (Basel).* 2023 Apr 11;12(4):907. doi:10.3390/antiox12040907

200. Сікора КО, Линдін МС, Сікора ВВ, Романюк АМ. Тривалий вплив важких металів супроводжується пригніченням експресії супероксиддисмутази-1 в матці щурів. VII Міжнародна науково-практична конференція з міжнародною участю «Проблеми, досягнення та перспективи розвитку медико-біологічних і спортивних наук»; 29 жовтня 2022 р.; м. Миколаїв, Україна. Миколаїв : Поліграфічне підприємство СПД Румянцева Г.В.; 2022. с. 7–8.

201. Taslima K, Al-Emran M, Rahman MS, Hasan J, Ferdous Z, Rohani MF, et al. Impacts of heavy metals on early development, growth and reproduction

of fish - A review. *Toxicol Rep.* 2022 Apr 20;9:858-68. doi:10.1016/j.toxrep.2022.04.013

202. Samrot AV, Noel Richard Prakash LX. Nanoparticles Induced Oxidative Damage in Reproductive System and Role of Antioxidants on the Induced Toxicity. *Life (Basel)*. 2023 Mar 13;13(3):767. doi:10.3390/life13030767

203. Condelli V, Crispo F, Pietrafesa M, Lettini G, Matassa DS, Esposito F, Landriscina M, Maddalena F. HSP90 Molecular Chaperones, Metabolic Rewiring, and Epigenetics: Impact on Tumor Progression and Perspective for Anticancer Therapy. *Cells*. 2019 Jun 3;8(6):532. doi:10.3390/cells8060532

204. Kim BM, Rhee JS, Jeong CB, Seo JS, Park GS, Lee YM, et al. Heavy metals induce oxidative stress and trigger oxidative stress-mediated heat shock protein (hsp) modulation in the intertidal copepod *Tigriopus japonicus*. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol.* 2014 Nov;166:65-74. doi:10.1016/j.cbpc.2014.07.005

205. Sikora K. The heavy metals impact on the heat shock proteins production in the rats endometrium. 7th Lublin International Medical Congress for Students and Young Doctors; 26–28 November 2020; Lublin, Poland. Lublin: Student's Scientific Society of the Medical University of Lublin; 2020. p. 215.

206. Jeyachandran S, Chellapandian H, Park K, Kwak IS. A Review on the Involvement of Heat Shock Proteins (Extrinsic Chaperones) in Response to Stress Conditions in Aquatic Organisms. *Antioxidants (Basel)*. 2023 Jul 18;12(7):1444. doi:10.3390/antiox12071444

207. Liu D, Shi Q, Liu C, Sun Q, Zeng X. Effects of Endocrine-Disrupting Heavy Metals on Human Health. *Toxics*. 2023;11(4):322. doi:10.3390/toxics11040322

208. Pollack AZ, Schisterman EF, Goldman LR, Mumford SL, Albert PS, Jones RL, et al. Cadmium, lead, and mercury in relation to reproductive hormones and anovulation in premenopausal women. *Environ Health Perspect.* 2011;119(8):1156-61. doi:10.1289/ehp.1003284

209. Sikora K, Lyndin M, Moskalenko R, Lyndina Y, Hyriavenko N, Awuah WA, Sikora V, Romaniuk A. Vitamin E reduces the suppression of estrogen receptors in the rat endometrium caused by exposure to heavy metals. 34th European Congress of Pathology; 03–07 September 2022 (Basel, Switzerland); Berlin, Germany: Springer. *Virchows Archiv*: 2022;481(Suppl 1):S268.
210. Clusan L, Ferrière F, Flouriot G, Pakdel F. A Basic Review on Estrogen Receptor Signaling Pathways in Breast Cancer. *Int J Mol Sci*. 2023;24(7):6834. doi:10.3390/ijms24076834
211. Eddie-Amadi BF, Ezejiolor AN, Orish CN, Orisakwe OE. Zn and Se abrogate heavy metal mixture induced ovarian and thyroid oxido-inflammatory effects mediated by activation of NRF2-HMOX-1 in female albino rats. *Curr Res Toxicol*. 2022;4:100098. doi:10.1016/j.crtox.2022.100098
212. Sikora K, Lyndin M, Moskalenko R, Kuzenko Y, Romaniuk A. Heavy metals exposure decrease the progesterone expression in the rat myometrium. 33rd European Congress of Pathology; 29-31 August 2021 (Gothenburg, Sweden – virtual); Berlin, Germany: Springer. *Virchows Archiv*: 2021;479(Suppl 1):S125.
213. Wang X, Ding N, Harlow SD, Randolph JF Jr, Mukherjee B, Gold EB, et al. Exposure to heavy metals and hormone levels in midlife women: The Study of Women's Health Across the Nation (SWAN). *Environ Pollut*. 2023 Jan 15;317:120740. doi:10.1016/j.envpol.2022.120740
214. Wojnarowski K, Cholewińska P, Palić D, Bednarska M, Jarosz M, Wiśniewska I. Estrogen Receptors Mediated Negative Effects of Estrogens and Xenoestrogens in Teleost Fishes-Review. *Int J Mol Sci*. 2022;23(5):2605. doi:10.3390/ijms23052605
215. Bhat RA, Bakhshalizadeh S, Guerrera MC, Kesbiç OS, Fazio F. Toxic effect of heavy metals on ovarian deformities, apoptotic changes, oxidative stress, and steroid hormones in rainbow trout. *J Trace Elem Med Biol*. 2023 Jan;75:127106. doi:10.1016/j.jtemb.2022.127106

216. Hewitt SC, Wu SP, Wang T, Young SL, Spencer TE, DeMayo FJ. Progesterone Signaling in Endometrial Epithelial Organoids. *Cells*. 2022 May 27;11(11):1760. doi:10.3390/cells11111760
217. Yu K, Huang ZY, Xu XL, Li J, Fu XW, Deng SL. Estrogen Receptor Function: Impact on the Human Endometrium. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2022 Feb 28;13:827724. doi:10.3389/fendo.2022.827724
218. Thomas J, Klebanov A, John S, Miller LS, Vegesna A, Amdur RL, et al. CEACAMS 1, 5, and 6 in disease and cancer: interactions with pathogens. *Genes Cancer*. 2023 Feb 1;14:12-29. doi:10.18632/genesandcancer.230
219. Kowalewski J, Paris T, Gonzalez C, Lelièvre E, Castaño Valencia L, et al. Characterization of a member of the CEACAM protein family as a novel marker of proton pump-rich ionocytes on the zebrafish epidermis. *PLoS One*. 2021 Jul 12;16(7):e0254533. doi:10.1371/journal.pone.0254533
220. Kim WM, Huang YH, Gandhi A, Blumberg RS. CEACAM1 structure and function in immunity and its therapeutic implications. *Semin Immunol*. 2019;42:101296. doi:10.1016/j.smim.2019.101296
221. Takeuchi A, Yokoyama S, Nakamori M, Nakamura M, Ojima T, Yamaguchi S, et al. Loss of CEACAM1 is associated with poor prognosis and peritoneal dissemination of patients with gastric cancer. *Sci Rep*. 2019 Sep 3;9(1):12702. doi:10.1038/s41598-019-49230-w
222. Sikora K, Lyndin M, Kravtsova O, Sikora V, Romaniuk A, Singer BB. CEACAM1 expression in the normal uterus of rats. 32nd European Congress of Pathology; 05–09 December 2020 (Brussels, Belgium); Berlin, Germany: Springer. *Virchows Archiv*: 2020;447(Suppl 1):S72.
223. Islam EA, Anipindi VC, Francis I, Shaik-Dasthagirisahab Y, Xu S, Leung N, Sintsova A, Amin M, Kaushic C, Wetzler LM, Gray-Owen SD. Specific Binding to Differentially Expressed Human Carcinoembryonic Antigen-Related Cell Adhesion Molecules Determines the Outcome of *Neisseria gonorrhoeae* Infections along the Female Reproductive Tract. *Infect Immun*. 2018 Jul 23;86(8):e00092-18. doi:10.1128/IAI.00092-18

224. Svalander PC, Odin P, Nilsson BO, Obrink B. Expression of cellCAM-105 in the apical surface of rat uterine epithelium is controlled by ovarian steroid hormones. *J Reprod Fertil.* 1990 Jan;88(1):213-21. doi:10.1530/jrf.0.0880213
225. Bamberger AM, Sudahl S, Löning T, Wagener C, Bamberger CM, Drakakis P, et al. The adhesion molecule CEACAM1 (CD66a, C-CAM, BGP) is specifically expressed by the extravillous intermediate trophoblast. *Am J Pathol.* 2000 Apr;156(4):1165-70. doi:10.1016/S0002-9440(10)64985-1
226. Jeanrenaud ACSN, Brooke BD, Oliver SV. Second generation effects of larval metal pollutant exposure on reproduction, longevity and insecticide tolerance in the major malaria vector *Anopheles arabiensis* (Diptera: Culicidae) *Parasit Vectors.* 2020;13:4-15. doi:10.1186/s13071-020-3886-9
227. Lukačínová A, Rácz O, Lovásová E, Ništiar F. Effect of lifetime low dose exposure to heavy metals on selected serum proteins of Wistar rats during three subsequent generations. *Ecotoxicol Environ Saf.* 2011;74(6):1747-55. doi:10.1016/j.ecoenv.2011.04.017
228. Flieger J, Flieger W, Baj J, Maciejewski R. Antioxidants: Classification, Natural Sources, Activity/Capacity Measurements, and Usefulness for the Synthesis of Nanoparticles. *Materials (Basel).* 2021 Jul 25;14(15):4135. doi:10.3390/ma14154135
229. Fagbohun OF, Gillies CR, Murphy KPJ, Rupasinghe HPV. Role of Antioxidant Vitamins and Other Micronutrients on Regulations of Specific Genes and Signaling Pathways in the Prevention and Treatment of Cancer. *Int J Mol Sci.* 2023 Mar 23;24(7):6092. doi:10.3390/ijms24076092
230. Hossain MS, Amin MN, Das A, Khan AKMJH, Sohel M, Ahmed J, et al. Increased lipid peroxidation, depleted non-enzymatic antioxidant, and variability in trace elements concentration in serum are correlated with Bangladeshi end-stage renal disease population. *Health Sci Rep.* 2021 Aug 6;4(3):e348. doi:10.1002/hsr2.348

231. Ungurianu A, Zanfirescu A, Nițulescu G, Margină D. Vitamin E beyond Its Antioxidant Label. *Antioxidants* (Basel). 2021 Apr 21;10(5):634. doi:10.3390/antiox10050634

232. Md Amin NA, Sheikh Abdul Kadir SH, Arshad AH, Abdul Aziz N, Abdul Nasir NA, Ab Latip N. Are Vitamin E Supplementation Beneficial for Female Gynaecology Health and Diseases? *Molecules*. 2022 Mar 15;27(6):1896. doi:10.3390/molecules27061896

233. Сікора КО. Особливості морфометричних змін матки щура у відновний період після відміни тривалого впливу важких металів та за умов використання вітаміну Е. V науково-практична конференція студентів та молодих вчених з міжнародною участю «Від експериментальної та клінічної патофізіології до досягнень сучасної медицини і фармації»; 18 травня 2023 р.; м. Харків, Україна. Х. : НФаУ; 2023. с. 282–3.

234. Sikora K, Lyndina Y, Hyriavenko N, Wireko A, Abdul-Rahman T, Tsepochko D, Romaniuk O, Lyndin M, Romaniuk A. Vitamin E inhibits heavy metals accumulation in the uterus during short- and long-time exposure. 35th European Congress of Pathology; 09–13 September 2023 (Dublin, Ireland); Berlin, Germany: Springer. *Virchows Archiv*: 2023;48(Suppl 1):S93.

235. Sikora K, Lyndin M, Moskalenko R, Lyndina Y, Hyriavenko N, Awuah WA, Sikora V, Romaniuk A. Vitamin E reduces the suppression of estrogen receptors in the rat endometrium caused by exposure to heavy metals. 34th European Congress of Pathology; 03–07 September 2022 (Basel, Switzerland); Berlin, Germany: Springer. *Virchows Archiv*: 2022;481(Suppl 1):S268.

236. Сікора КО, Линдін МС, Гирявенко НІ, Сікора ВВ, Романюк АМ. Гістологічні зміни в стінці матки щурів під дією солей важких металів. Матеріали третьої всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю «Теорія та практика сучасної морфології»; 9-11 жовтня 2019 р.; м. Дніпро, Україна. Дніпро: Дніпропетровська медична академія МОЗ України; 2019. с. 123–4.

237. Wireko AA, Sikora K, Lyndin M, Hyriavenko N, Romaniuk A. Heavy metals effect on the chemical composition variations in rat uterus tissue. International Medical Students' Congress of Bucharest; 09-13 December 2020; Bucharest, Romania; 2020. p. 44.

238. Sikora K, Lyndin M, Moskalenko R, Kuzenko Y, Romaniuk A. Heavy metals exposure decrease the progesterone expression in the rat myometrium. 33rd European Congress of Pathology; 29-31 August 2021 (Gothenburg, Sweden – virtual); Berlin, Germany: Springer. Virchows Archiv: 2021;479(Suppl 1):S125.

239. Сікора КО, Линдіна ЮМ, Авуах ВЕ, Романюк АМ. Оцінка змін морфологічної будови та елементного складу матки щурів після відміни дії важких металів. Матеріали Всеукраїнської міждисциплінарної науково-практичної конференції з міжнародною участю «УМСА – століття інноваційних напрямків та наукових досягнень (до 100-річчя від заснування УМСА)» присвячена 100-річчю заснування Української медичної стоматологічної академії; 8 жовтня 2021; Полтава, Україна. Полтава: Полтавський державний медичний університет; 2021. с. 156–7.

240. Сікора КО. Морфологічні зміни в міометрії щурів за умов впливу солей важких металів. XIII Всеукраїнська науково-практична конференція «Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм»; 26-28 жовтня 2022 р.; м. Тернопіль, Україна. Тернопіль: Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України; 2022. с. 64.

ДОДАТКИ

Додаток А

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Наукові праці, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації:

1. **Sikora K**, Lyndin M, Hyriavenko N, Lyndina Yu, Sikora V, Romaniuk A. Morphological features of the rat uterus. Pol Merkur Lekarski. 2021;XLIX(294):420-5.

2. **Сікора КО**. Морфометричні зміни товщини матки щурів після 30 днів впливу солей важких металів. Східноукраїнський медичний журнал. 2022;10(3):274-82. DOI: 10.21272/eumj.2022;10(3):274-282.

3. **Sikora K**, Lyndina Y, Awuah WA, Abdul-Rahman T, Chyzhma R, Hyriavenko N, Lyndin M, Sikora V, Romaniuk A. Microelement imbalance in the rat uterus after short-term heavy metals exposure. Fiziol Zh. 2022;68(6):12-7. DOI: 10.15407/fz68.06.012.

4. **Sikora K**, Lyndina Y, Hyriavenko N, Awuah AW, Abdul-Rahman T, Lyndin M, Sikora V, Romaniuk A. Heavy metals effect on estrogen and progesterone receptors expression in the rat uterus. Azerbaijan medical journal. 2022;4:164-9. DOI: 10.34921/amj.2022.4.026.

5. **Sikora K**, Lyndin M, Sikora V, Hyriavenko N, Piddubnyi A, Lyndina Y, Awuah WA, Abdul-Rahman T, Korobchanska A, Alexiou A, Romaniuk A. Heavy metals effect on the rat uterus and effectiveness of vitamin E treatment. JJBS. 2023;16(3):455-65. DOI: 10.54319/jjbs/160309.

Наукові праці, які додатково відображають наукові результати дисертації:

6. Кузенко ЄВ, Романюк АМ, Скиданенко МС, Линдін МС, Сікора ВВ, Піддубний АМ, Москаленко РА, **Сікора КО**, Дяченко ОО, Линдіна ЮМ, Покотило ВМ, Гирявенко НІ, Карпенко ЛІ, Коломієць ОО, Кузенко ОВ,

винахідники; Сумський державний університет МОН України, патентовласник. Пристрій для гістологічного та гістохімічного забарвлення препаратів. Патент України на корисну модель № 144872. 2020 Жов 26, Бюл. № 20. 6 с.

Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:

7. **Сікора КО**, Линдін МС, Гирявенко НІ, Сікора ВВ, Романюк АМ. Гістологічні зміни в стінці матки щурів під дією солей важких металів. Матеріали третьої всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю «Теорія та практика сучасної морфології»; 9-11 жовтня 2019 р.; м. Дніпро, Україна. Дніпро: Дніпропетровська медична академія МОЗ України; 2019. с. 123–4.

8. **Sikora K**, Lyndin M, Kravtsova O, Sikora V, Romaniuk A, Singer BB. CEACAM1 expression in the normal uterus of rats. 32nd European Congress of Pathology; 05–09 December 2020 (Brussels, Belgium); Berlin, Germany: Springer. Virchows Archiv: 2020;447(Suppl 1):S72.

9. **Sikora K**. The heavy metals impact on the heat shock proteins production in the rats endometrium. 7th Lublin International Medical Congress for Students and Young Doctors; 26–28 November 2020; Lublin, Poland. Lublin: Student's Scientific Society of the Medical University of Lublin; 2020. p. 215.

10. Wireko AA, **Sikora K**, Lyndin M, Hyriavenko N, Romaniuk A. Heavy metals effect on the chemical composition variations in rat uterus tissue. International Medical Students' Congress of Bucharest; 09-13 December 2020; Bucharest, Romania; 2020. p. 44.

11. **Sikora K**, Lyndin M, Moskalenko R, Kuzenko Y, Romaniuk A. Heavy metals exposure decrease the progesterone expression in the rat myometrium. 33rd European Congress of Pathology; 29-31 August 2021 (Gothenburg, Sweden – virtual); Berlin, Germany: Springer. Virchows Archiv: 2021;479(Suppl 1):S125.

12. **Сікора КО**, Линдіна ЮМ, Авуах ВЕ, Романюк АМ. Оцінка змін морфологічної будови та елементного складу матки щурів після відміни дії важких металів. Матеріали Всеукраїнської міждисциплінарної науково-

практичної конференції з міжнародною участю «УМСА – століття інноваційних напрямків та наукових досягнень (до 100-річчя від заснування УМСА)» присвячена 100-річчю заснування Української медичної стоматологічної академії; 8 жовтня 2021; Полтава, Україна. Полтава: Полтавський державний медичний університет; 2021. с. 156–7.

13. **Sikora K**, Lyndin M, Moskalenko R, Lyndina Y, Hyriavenko N, Awuah WA, Sikora V, Romaniuk A. Vitamin E reduces the suppression of estrogen receptors in the rat endometrium caused by exposure to heavy metals. 34th European Congress of Pathology; 03–07 September 2022 (Basel, Switzerland); Berlin, Germany: Springer. Virchows Archiv: 2022;481(Suppl 1):S268.

14. **Сікора КО**, Линдін МС, Сікора ВВ, Романюк АМ. Тривалий вплив важких металів супроводжується пригніченням експресії супероксиддисмутази-1 в матці щурів. VII Міжнародна науково-практична конференція з міжнародною участю «Проблеми, досягнення та перспективи розвитку медико-біологічних і спортивних наук»; 29 жовтня 2022 р.; м. Миколаїв, Україна. Миколаїв : Поліграфічне підприємство СПД Румянцева Г.В.; 2022. с. 7–8.

15. **Сікора КО**. Морфологічні зміни в міометрії щурів за умов впливу солей важких металів. XIII Всеукраїнська науково-практична конференція «Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм»; 26-28 жовтня 2022 р.; м. Тернопіль, Україна. Тернопіль: Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України; 2022. с. 64.

16. **Сікора КО**. Особливості морфометричних змін матки щура у відновний період після відміни тривалого впливу важких металів та за умов використання вітаміну Е. V науково-практична конференція студентів та молодих вчених з міжнародною участю «Від експериментальної та клінічної патофізіології до досягнень сучасної медицини і фармації»; 18 травня 2023 р.; м. Харків, Україна. Х. : НФаУ; 2023. с. 282–3.

17. **Sikora K**, Lyndina Y, Hyriavenko N, Wireko A, Abdul-Rahman T, Tsepochko D, Romaniuk O, Lyndin M, Romaniuk A. Vitamin E inhibits heavy metals accumulation in the uterus during short- and long-time exposure. 35th European Congress of Pathology; 09–13 September 2023 (Dublin, Ireland); Berlin, Germany: Springer. *Virchows Archiv*: 2023;483(Suppl 1):S93.

АПРОБАЦІЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Третя всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю «Теорія та практика сучасної морфології»; 9-11 жовтня 2019 р.; м. Дніпро, Україна. – публікація тез.
2. 32-й Європейський конгрес патології; 05–09 грудня 2020 р.; м. Глазго, Шотландія. – дистанційна стендова доповідь, публікація тез.
3. 7-й Люблінський міжнародний медичний конгрес для студентів та молодих лікарів; 26–28 листопада 2020 р.; Люблін, Польща. – дистанційна усна доповідь, публікація тез.
4. Міжнародний конгрес студентів-медиків у Бухаресті; 09-13 грудня 2020 р.; м. Бухарест, Румунія. – дистанційна усна доповідь, публікація тез.
5. 33-й Європейський конгрес патології (віртуально); 29-31 серпня 2021 р.; м. Гетеборг, Швеція – дистанційна усна доповідь, публікація тез.
6. Всеукраїнська міждисциплінарна науково-практична конференція з міжнародною участю «УМСА – століття інноваційних напрямків та наукових досягнень (до 100-річчя від заснування УМСА)» присвячена 100-річчю заснування Української медичної стоматологічної академії; 8 жовтня 2021; Полтава, Україна. – публікація тез.
7. 34-й Європейський конгрес патології; 03–07 вересня 2022 р.; м. Базель, Швейцарія. – стендова доповідь, публікація тез.
8. VII Міжнародна науково-практична конференція з міжнародною участю «Проблеми, досягнення та перспективи розвитку медико-біологічних і спортивних наук»; 29 жовтня 2022 р.; м. Миколаїв, Україна. – публікація тез.
9. XIII Всеукраїнська науково-практична конференція «Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм»; 26-28 жовтня 2022 р.; м. Тернопіль, Україна. – публікація тез.
10. V науково-практична конференція студентів та молодих вчених з міжнародною участю «Від експериментальної та клінічної патофізіології до

досягнень сучасної медицини і фармації»; 18 травня 2023 р.; м. Харків, Україна. – публікація тез.

11. 35-й Європейський конгрес патології; 09–13 вересня 2023 р.; м. Дублін, Ірландія. – стендова доповідь, публікація тез.

12. Засідання кафедри патологічної анатомії (протокол №9 від 02 травня 2023 р.) Навчально-наукового медичного інституту Сумського державного університету; 2 травня 2023 р.; м. Суми, Україна. – усна доповідь.

13. Засідання апробаційної ради (протокол №35 від 20 вересня 2023 р.) з попередньої експертизи дисертаційної роботи за спеціальністю 222 – «Медицина» Навчально-наукового медичного інституту Сумського державного університету, м. Суми, Україна. – усна доповідь.

ЗАТВЕРДЖУЮ

В.о. першого проректора
Івано-Франківського національного
медичного університету
д.фарм.н., професор Андрій ГРИЦИК
«_____» _____ 2023р.



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

- 1. Пропозиція для впровадження:** «Morphological features of the rat uterus».
 - 2. Установа-розробник:** Навчально-науковий медичний інститут Сумського державного університету.
 - 3. Автор:** аспірант кафедри патологічної анатомії **Сікора Катерина Олексіївна** та співавтори.
 - 4. Джерело інформації:** **Sikora K**, Lyndin M, Hyriavenko N, Lyndina Yu, Sikora V, Romaniuk A. Morphological features of the rat uterus. Pol Merkur Lekarski. 2021;XLIX(294):420–5.
 - 5. Впроваджено:** у навчальний процес та наукову роботу кафедри.
 - 6. Результати впровадження:** введено у навчальний процес – матеріали лекцій та практичні заняття.
 - 7. Термін впровадження:** квітень-травень 2023 року.
 - 8. Базова установа, яка проводить впровадження:** кафедра гістології, цитології та ембріології Івано-Франківського національного медичного університету.
 - 9. Зауваження і пропозиції:** не вносилися.
- Пропозиція обговорена і затверджена на методичному засіданні кафедри гістології, цитології та ембріології Івано-Франківського національного медичного університету (протокол № 1 від 28 серпня 2023 року).

Відповідальний за впровадження:

завідувач кафедри гістології, цитології та ембріології
Івано-Франківського національного медичного університету
д. мед. н, професор

Сергій ГЕРАЩЕНКО

ЗАТВЕРДЖУЮ

Перший проректор з науково –
педагогічної роботи
Полтавського державного
медичного університету
Валентин ДВОРНИК



2023р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

- 1. Пропозиція для впровадження:** «*Heavy metals effect on estrogen and progesterone receptors expression in the rat uterus*».
- 2. Установа-розробник:** Навчально-науковий медичний інститут Сумського державного університету.
- 3. Автор:** аспірант кафедри патологічної анатомії **Сікора Катерина Олексіївна** та співавтори.
- 4. Джерело інформації:** **Sikora K**, Lyndina Y, Hyriavenko N, Awuah AW, Abdul-Rahman T, Lyndin M, Sikora V, Romaniuk A. Heavy metals effect on estrogen and progesterone receptors expression in the rat uterus. Azerbaijan medical journal. 2022;4:164-169.
doi: 10.34921/amj.2022.4.026
- 5. Впроваджено:** у навчальний процес та наукову роботу кафедри.
- 6. Результати впровадження:** введено у навчальний процес – матеріали лекцій та практичні заняття.
- 7. Термін впровадження:** квітень-травень 2023 року.
- 8. Базова установа, яка проводить впровадження:** кафедра патологічної анатомії та судової медицини Полтавського державного медичного університету.
- 9. Зауваження і пропозиції:** не вносилися.

Пропозиція обговорена і затверджена на методичному засіданні кафедри патологічної анатомії та судової медицини (протокол № 1 від 30. 08.2023 року).

Завідувач кафедри патологічної анатомії та
судової медицини
Полтавського державного медичного університету
доктор медичних наук, професор

Іван СТАРЧЕНКО

ЗАТВЕРДЖУЮ


Проректор з науково-педагогічної роботи
Харківського національного
медичного університету



проф. В.Д. Марковський

«__» _____ 2023 р.

АКТ ПРО ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Найменування пропозиції: «Morphological features of the rat uterus».
 2. Ким і коли запропонований: аспірант кафедри патологічної анатомії Сікора Катерина Олексіївна, Навчально-науковий медичний інститут Сумського державного університету., 2023 р.
 3. Джерела інформації: наукові роботи у вітчизняних та закордонних фахових виданнях:
3.1 Sikora K, Lyndin M, Hyriavenko N, Lyndina Yu, Sikora V, Romaniuk A. Morphological features of the rat uterus. Pol Merkur Lekarski. 2021; XLIX(294):420–5.
 4. Де і коли впроваджено: кафедра анатомії людини Харківського національного медичного університету, завідувач кафедри д. мед. наук, проф. Вовк О.Ю., квітень-травень 2023 року.
 5. Результати застосування методу за період квітень-травень 2023 року. Впровадження у матеріали лекцій та практичних занять з анатомії людини, а також у наукову роботу кафедри.
 6. Ефективність впровадження за критеріями, висловленими в джерелі інформації (п.3): Поглиблення знань студентів, аспірантів про морфологічні особливості матки.
 7. Зауваження, пропозиції – немає.
- Обговорено та затверджено на засіданні кафедри (протокол 22 від «13» червня 2023 р.)

Відповідальний за впровадження

Завідувач кафедри анатомії людини
Харківського національного
медичного університету,
д. мед. н., проф. Вовк О.Ю.

13.06.2023

(дата)


(підпис)

ЗАТВЕРДЖУЮ

Проректор з наукової роботи
Харківського національного
медичного університету
проф. Валерій М'ЯСОЄДОВ
« ___ » _____ 20__ р.

АКТ ПРО ВПРОВАДЖЕННЯ

- 1. Найменування пропозиції** (метод профілактики, діагностики, лікування, пристрій, форма організаційної роботи та ін.): Спосіб діагностики впливу важких металів на експресію рецепторів естрогену та прогестерону в матці щура.
- 2. Ким і коли запропонований:** Навчально-науковий медичний інститут Сумського державного університету, кафедра патологічної анатомії, аспірант Сікора К.О. (40007, м. Суми, Санаторна, 1), 2023 р.
- 3. Джерела інформації** (методичні рекомендації, інформаційний лист, звіт про НДР, дисертація, монографія, з'їзди, конференції, семінари та ін.): *Sikora K, Lyndina Y, Nyriavenko N, Awuah AW, Abdul-Rahman T, Lyndin M, Sikora V, Romaniuk A. Heavy metals effect on estrogen and progesterone receptors expression in the rat uterus. Azerbaijan medical journal. 2022;4:164-169. doi: 10.34921/amj.2022.4.026*
- 4. Де і коли впроваджено:** кафедра патологічної анатомії Харківського національного медичного університету, 2023 р.
- 5. Результати застосування методу за період з квітня 2023 р. по жовтень 2023 р.:** Впровадження у навчальний процес на кафедрі патологічної анатомії Харківського національного медичного університету в лекційному курсі, при проведенні практичних занять зі студентами, лікарями-інтернами, клінічними ординаторами та аспірантами, а також у науково-дослідну роботу кафедри.
- 6. Ефективність впровадження за критеріями, висловленими в джерелі інформації (п.3):** Використання результатів роботи в навчальному процесі та науково-дослідній роботі дозволяє поглибити знання студентів, лікарів-інтернів, клінічних ординаторів і аспірантів, а також удосконалити діагностику впливу важких металів на експресію рецепторів естрогену та прогестерону в матці.
- 7. Зауваження, пропозиції:** не має.

Відповідальний(і) за впровадження

В.о. завідувача кафедри
патологічної анатомії ХНМУ,
доктор медичних наук, професор

03.04.2023
(дата)

Ірина СОРОКІНА

(підпис)

ЗАТВЕРДЖУЮ

Перший проректор
Сумського державного університету
(посада)
Сергій ЛЕОНОВ
(ім'я та ПРИЗВИЩЕ)
2023 р.

АКТ

впровадження (використання) результатів
науково-дослідної роботи (етапу НДР) / дисертаційної роботи у навчальний процес

Морфофункціональні зміни в матці за умов впливу солей важких металів,
(номер держреєстрації НДР, назва теми, етапу; назва теми дисертації)
яка виконана в період з жовтень 2019 р. по вересень 2023.

розроблено морфофункціональну характеристику змін в матці за умов впливу солей важких металів та після їх відміни
(назва результату НДР/дисертаційної роботи)

Здобувач – аспірантка Сікора Катерина Олексіївна, кафедра патологічної анатомії Навчально-наукового медичного інституту Сумського державного університету

Комісія в складі:


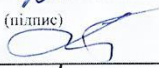


Голова комісії: <u>голова ради з якості ННМІ</u> (посада)	<u>Вікторія ПЕТРАШЕНКО</u> (ім'я та ПРИЗВИЩЕ)
Члени комісії: <u>гарант освітньої програми</u> <u>222 «Медицина» (магістр)</u> (посада)	<u>Людмила ПРИСТУПА</u> (ім'я та ПРИЗВИЩЕ)
<u>222 «Медицина» (доктор філософії)</u> (посада)	<u>Юрій АТАМАН</u> (ім'я та ПРИЗВИЩЕ)
<u>завідувачка кафедри морфології</u> (посада)	<u>Валентина БУМЕЙСТЕР</u> (ім'я та ПРИЗВИЩЕ)

Встановила, що результати науково-дослідної роботи використовується в навчальному та науковому процесі за освітньою програмою Медицина
(назва програми)

освітнього ступеня: магістр, доктор філософії спеціальності 222 «Медицина»
(бакалавр, магістр, доктор філософії) (назва спеціальності)

шляхом реалізації наступного: При викладанні дисципліни «Анатомія людини» модуль «Спланхнологія», що дозволяє розширити знання студентів щодо морфологічних особливостей змін матки під час експериментальних умов та у науковій роботі кафедри.

« 21 » вересня 2023 р.

Голова комісії: <u></u> (підпис)	<u>Вікторія ПЕТРАШЕНКО</u> (ім'я та ПРИЗВИЩЕ)
Члени комісії: <u></u> (підпис)	<u>Людмила ПРИСТУПА</u> (ім'я та ПРИЗВИЩЕ)
<u></u> (підпис)	<u>Юрій АТАМАН</u> (ім'я та ПРИЗВИЩЕ)
<u></u> (підпис)	<u>Валентина БУМЕЙСТЕР</u> (ім'я та ПРИЗВИЩЕ)

ЗАТВЕРДЖУЮ

Перший проректор
Сумського державного університету
 (посада)
Сергій ЛЕОНОВ
 (ім'я та ПРІЗВИЩЕ)
 2023 р.

АКТ

**впровадження (використання) результатів
 науково-дослідної роботи (етапу НДР) / дисертаційної роботи у навчальний процес**

Морфофункціональні зміни в матці за умов впливу солей важких металів,
 (номер держреєстрації НДР, назва темп. етапу; назва теми дисертації)
 яка виконана в період з жовтень 2019 р. по вересень 2023.

розроблено мофофункціональну характеристику змін в матці за умов впливу солей важких металів та після їх відміни, а також досліджено ефективність застосування вітаміну Е.
 (назва результату НДР/дисертаційної роботи)

Здобувач – аспірантка Сікора Катерина Олексіївна, кафедра патологічної анатомії Навчально-наукового медичного інституту Сумського державного університету

Комісія в складі:


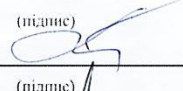
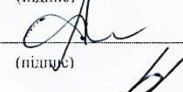

Голова комісії: <u>голова ради з якості ННМІ</u> (посада)	<u>Вікторія ПЕТРАШЕНКО</u> (ім'я та ПРІЗВИЩЕ)
Члени комісії: <u>гарант освітньої програми</u> <u>222 «Медицина» (магістр)</u> (посада)	<u>Людмила ПРИСТУПА</u> (ім'я та ПРІЗВИЩЕ)
<u>222 «Медицина» (доктор філософії)</u> (посада)	<u>Юрій АТАМАН</u> (ім'я та ПРІЗВИЩЕ)
<u>завідувач кафедри патологічної анатомії</u> (посада)	<u>Анатолій РОМАНЮК</u> (ім'я та ПРІЗВИЩЕ)

Встановила, що результати науково-дослідної роботи використовується в навчальному та науковому процесі за освітньою програмою Медицина
 (назва програми)

освітнього ступеня: магістр, доктор філософії спеціальності 222 «Медицина»
 (бакалавр, магістр, доктор філософії) (назва спеціальності)

шляхом реалізації наступного: При викладанні дисципліни «Патоморфологія», що дозволяє розширити знання студентів щодо морфологічних особливостей змін матки під час експериментальних умов та у науковій роботі кафедри.

« 01 » вересня 2023 р.

Голова комісії: <u></u> (підпис)	<u>Вікторія ПЕТРАШЕНКО</u> (ім'я та ПРІЗВИЩЕ)
Члени комісії: <u></u> (підпис)	<u>Людмила ПРИСТУПА</u> (ім'я та ПРІЗВИЩЕ)
<u></u> (підпис)	<u>Юрій АТАМАН</u> (ім'я та ПРІЗВИЩЕ)
<u></u> (підпис)	<u>Анатолій РОМАНЮК</u> (ім'я та ПРІЗВИЩЕ)

Таблиця В.1

Морфометричні показники стінки матки щурів
на 30-ту добу дослідження (мкм).

	Ендометрій	Епітелій	Строма	Міометрій	Циркулярний шар	Поздовжній шар	Периметрій	Стінка матки
Серія	Кнтр							
1	511,36	22,09	489,27	327,88	172,74	155,14	9,15	848,39
2	582,8	26,51	556,29	277,53	149,9	127,63	10,38	870,71
3	452,18	23,38	428,8	336,28	167,16	169,12	9,52	797,98
4	553,86	24,12	529,74	313,07	178,87	134,2	10,58	877,51
5	481,94	23,91	458,03	283,72	155,06	128,66	8,53	774,19
6	482,79	22,02	460,77	319,71	142,34	177,37	9,96	812,46
7	521,73	19,6	502,13	330,82	187,97	142,85	9,06	861,61
8	495,2	20,48	474,72	272,92	148,54	124,38	8,26	776,38
Серія	ВМ(30)							
1	758,6	42,93	715,67	355,27	172,67	186,93	10,53	1128,73
2	750,84	38,6	712,24	364,62	202,79	161,83	9,15	1124,61
3	735,66	49,08	686,58	332,75	155,65	177,1	10,13	1078,54
4	623,97	47,13	576,84	359,6	165,13	190,14	9,36	988,6
5	697,39	54,08	643,31	411,85	196,27	215,58	10,82	1120,06
6	675,88	50,14	625,74	379,84	201,76	178,08	10,68	1066,4
7	732,56	35,01	697,55	412,45	216,6	195,85	8,52	1153,53
8	651,42	41,86	609,56	351,26	181,97	169,29	9,96	1012,64
Серія	ВМ+Е(30)							
1	590,97	34,01	556,96	353,23	158,54	194,69	9,42	953,62
2	598,33	39,5	558,83	388,68	202,42	186,26	8,41	995,42
3	599,33	34,69	564,64	362,65	178,01	184,64	10,36	972,34
4	617,98	43,93	574,05	323,64	151,27	172,37	9,45	951,07
5	671,07	32,32	638,75	389,15	160,61	228,54	9,88	1070,1
6	709,58	34,7	674,88	360,49	178,37	182,12	9,48	1079,55
7	658,76	37,51	621,25	360,57	192,64	167,93	10,37	1029,7
8	609,78	41,5	568,28	311,83	162,64	149,19	8,36	929,97

Таблиця В.2

Морфометричні показники стінки матки щурів
на 90-ту добу дослідження (мкм).

	Ендометрій	Епітелій	Строма	Міометрій	Циркулярний шар	Поздовжній шар	Периметрій	Стінка матки
Серія	Кнтр							
1	527,12	22,91	504,21	310,91	153,37	157,54	9,45	847,48
2	554,38	19,25	535,13	337,93	171,59	166,34	9,95	902,26
3	488,62	20,45	468,17	335,45	173,82	161,63	10,53	834,6
4	455,69	23,81	431,88	291,58	147,72	143,86	9,65	756,92
5	560,7	24,24	536,46	298,97	142,69	156,28	9,57	869,24
6	508,13	23,06	485,07	276,41	139,62	136,79	10,64	795,18
7	540,43	19,93	520,5	279,23	153,07	126,16	8,69	828,35
8	596,61	24,81	571,8	280,22	158,51	121,71	9,31	886,14
Серія	ВМ(90)							
1	310,9	12,68	298,22	171,43	93,56	77,87	9,71	492,04
2	297,31	10,33	286,98	192,55	108,87	83,68	11,15	501,01
3	373,98	17,56	356,42	246,55	126,67	119,88	9,59	630,12
4	273,6	15,46	258,14	190,22	96,81	93,41	10,29	474,11
5	287,79	16,28	271,51	166,07	86,59	79,48	10,05	463,91
6	347,89	13,99	333,9	159,37	86,36	73,01	10,4	517,66
7	276,13	9,16	266,97	207,21	102,16	105,05	8,92	492,26
8	359,65	12,84	346,81	226,81	112,85	113,96	9,9	596,36
Серія	ВМ+Е(90)							
1	429,52	19,18	410,34	237,98	109,17	128,81	8,64	676,14
2	373,73	16,29	357,44	220,66	88,91	131,75	10,59	604,98
3	352,92	20,52	332,4	191,68	94,49	97,19	10,12	554,72
4	350,79	16,57	334,22	219,19	114,96	104,23	10,43	580,41
5	358,72	17,86	340,86	239,56	120,51	119,05	9,55	607,83
6	368,68	19,66	349,02	267,01	136,56	130,45	9,29	644,98
7	457,51	15,44	442,07	212,58	119,01	93,57	8,46	678,55
8	360,18	13,49	346,69	254,07	131,18	122,89	9,14	623,39

Таблиця В.3

Морфометричні показники стінки матки щурів
на 180-ту добу дослідження (мкм).

	Ендометрій	Епітелій	Строма	Міометрій	Циркулярний шар	Поздовжній шар	Периметрій	Стінка матки
Серія	Кнтр							
1	494,56	25,02	469,54	322,85	167,82	155,03	8,91	826,32
2	548,28	24,77	523,51	322,34	175,69	146,65	11,22	881,84
3	541,51	23,97	517,54	279,49	145,13	134,36	8,73	829,73
4	418,11	19,54	398,57	347,69	179,43	168,26	10,47	776,27
5	519,32	21,64	497,68	296,59	154,31	142,28	10,64	826,55
6	515,37	24,28	491,09	335,21	153,79	181,42	9,59	860,17
7	423,65	19,97	403,68	269,93	133,95	135,98	9,24	702,82
8	502,91	24,97	477,94	306,49	161,53	144,96	9,81	819,21
Серія	ВМ(90)+90відн							
1	341,91	18,05	323,86	251,41	124,32	127,09	10,74	604,06
2	309,55	11,71	297,84	209,12	98,62	110,5	8,34	527,01
3	345,22	12,56	332,66	205,41	95,84	109,57	10,04	560,67
4	323,09	14,46	308,63	272,52	140,93	131,59	9,72	605,33
5	362,35	16,76	345,59	215,81	121,46	94,35	10,72	588,88
6	301,53	18,71	282,82	247,77	128,92	118,85	10,11	559,41
7	308,02	13,5	294,52	209,91	114,57	95,34	10,35	528,28
8	445,13	11,92	433,21	197,13	89,56	107,57	10,34	652,6
Серія	ВМ(90)+90відн(Е)							
1	366,74	14,35	352,39	254,68	147,19	107,49	10,06	631,48
2	325,19	13,85	311,34	240,08	108,75	131,33	8,84	574,11
3	395,69	20,43	375,26	210,64	120,04	90,6	9,86	616,19
4	437,72	19,11	418,61	248,16	112,15	136,01	10,21	696,09
5	428,69	13,36	415,33	203,2	107,81	95,39	8,31	640,2
6	450,15	12,36	437,79	273,74	156,59	117,15	10,09	733,98
7	291,71	18,42	273,29	256,35	142,87	113,48	9,05	557,11
8	372,62	17,46	355,16	247,69	122,16	125,53	9,34	629,65
Серія	ВМ+Е(90)+90відн(Е)							
1	395,56	20,81	374,75	256,46	125,94	130,52	9,69	661,71
2	423,47	16,71	406,76	227	108,91	118,09	10,86	661,33
3	370,64	22,08	348,56	281,75	144,56	137,19	9,01	661,4
4	480,04	15,87	464,17	205,95	104,08	101,87	10,56	696,55
5	456,16	19,66	436,5	256,87	129,61	127,26	9,38	722,41

Продовження додатку В

6	477,95	18,42	459,53	278,78	157,61	121,17	10,31	767,04
7	387,71	17,47	370,24	283,93	146,74	137,19	9,1	680,74
8	461,82	21,71	440,11	278,48	134,42	144,06	10,4	750,7

Таблиця В.4

Показники вмісту хімічних елементів в тканині матки щурів
на 30-ту добу дослідження (мкг/г).

	Свинець	Залізо	Мідь	Марганець	Цинк	Хром	Сума ВМ
Серія	Кнтр						
1	0,138	86,91	4,83	2,39	38,09	0,915	133,27
2	0,142	79,69	5,03	2,61	37,99	0,892	126,35
3	0,148	85,23	4,52	2,33	37,39	0,917	130,54
4	0,147	90,56	4,77	2,39	40,15	0,902	138,92
5	0,141	78,38	4,8	2,47	38,4	0,909	125,1
6	0,151	87,36	4,84	2,31	34,87	0,911	130,44
7	0,139	88,4	4,91	2,34	41,89	0,916	138,6
8	0,142	91,99	5,05	2,58	38,74	0,903	139,41
Серія	ВМ(30)						
1	0,224	151,96	6,35	3,46	53,61	1,33	216,93
2	0,231	146,26	7,07	3,48	48,7	1,308	207,05
3	0,208	141,24	7,47	3,36	51,81	1,294	205,38
4	0,218	135,35	6,86	3,51	51,48	1,339	198,76
5	0,211	142,14	6,68	3,37	56,98	1,348	210,73
6	0,212	148,73	7,08	3,59	49,41	1,381	210,40
7	0,218	134,31	7,55	3,01	53,91	1,385	200,38
8	0,228	115,11	7,01	3,19	46,53	1,361	173,43
Серія	ВМ+E(30)						
1	0,209	116,18	6,13	3,15	49,81	1,179	176,66
2	0,189	124,89	6,04	2,94	47,68	1,242	182,98
3	0,203	139,07	6,42	3,09	40,01	1,248	190,04
4	0,187	114,81	6,61	2,93	46,47	1,268	172,28
5	0,198	134,91	6,56	3,35	45,37	1,203	191,59
6	0,198	129,49	6,09	2,97	46,07	1,258	186,08
7	0,199	114,83	6,31	3,02	45,61	1,242	171,21
8	0,208	123,18	6,42	3,01	43,2	1,231	177,25

Таблиця В.5

Показники вмісту хімічних елементів в тканині матки щурів
на 90-ту добу дослідження (мкг/г).

	Свинець	Залізо	Мідь	Марганець	Цинк	Хром	Сума ВМ
Серія	Кнтр						
1	0,143	88,49	4,81	2,56	38,95	0,908	135,72
2	0,142	87,39	4,96	2,56	37,29	0,924	133,27
3	0,138	91,42	4,94	2,23	40,19	0,902	139,82
4	0,135	90,33	4,78	2,38	34,63	0,93	133,19
5	0,148	82,3	4,52	2,41	38,68	0,922	128,98
6	0,138	92,29	5	2,27	41,77	0,911	142,38
7	0,152	88,75	4,89	2,18	34,98	0,904	131,86
8	0,149	79,87	4,76	2,51	37,2	0,914	125,4
Серія	ВМ(90)						
1	0,262	156,37	8,14	4,21	59,21	1,607	229,8
2	0,264	186,16	7,74	3,64	50,61	1,609	250,02
3	0,281	147,79	8,3	4,12	60,83	1,57	222,89
4	0,279	166,83	7,49	3,98	55,28	1,533	235,39
5	0,257	166,7	8,01	4,07	54,08	1,642	234,76
6	0,26	165,81	7,6	3,53	55,34	1,572	234,11
7	0,277	147,4	7,23	3,86	62,13	1,538	222,44
8	0,274	168,39	7,71	3,89	56,04	1,587	237,89
Серія	ВМ+Е(90)						
1	0,233	129,73	7,1	3,41	49,74	1,455	191,67
2	0,224	125,2	7,13	3,39	53,84	1,429	191,21
3	0,244	149,9	7,27	3,44	44,82	1,468	207,14
4	0,219	133,41	7,24	3,49	43,08	1,396	188,84
5	0,239	136,4	7,21	3,65	53,83	1,374	202,7
6	0,225	141,29	6,98	3,35	51,67	1,452	204,97
7	0,227	156,67	6,72	3,7	49,34	1,405	218,06
8	0,242	140,41	6,79	3,27	46,65	1,398	198,76

Таблиця В.6

Показники вмісту хімічних елементів в тканині матки щурів
на 180-ту добу дослідження (мкг/г).

	Свинець	Залізо	Мідь	Марганець	Цинк	Хром	Сума ВМ
Серія	Кнтр						
1	0,149	80,38	4,69	2,41	34,36	0,923	122,91
2	0,143	79,83	4,61	2,52	32,49	0,903	120,5
3	0,147	93,91	4,93	2,28	37,84	0,924	140,03
4	0,139	88,71	4,98	2,53	35,72	0,909	132,99
5	0,142	83,84	5,06	2,56	30,73	0,911	123,24
6	0,145	81,02	5,06	2,38	39,4	0,909	128,91
7	0,141	85,53	4,72	2,44	35,71	0,914	129,46
8	0,137	91,7	4,92	2,39	38,78	0,905	138,83
Серія	ВМ(90)+90відн						
1	0,245	150,76	7,42	3,05	45,3	1,467	208,24
2	0,254	138,96	7,58	3,53	53,9	1,501	205,73
3	0,256	128,79	6,84	3,75	45,19	1,447	186,27
4	0,234	119,7	7,52	3,55	47,11	1,454	179,57
5	0,252	142,86	7,44	3,43	45,98	1,447	201,41
6	0,249	119,57	7,34	3,79	49,58	1,518	182,05
7	0,25	151,95	6,95	3,34	45,63	1,451	209,57
8	0,246	142,73	7,76	3,48	51,09	1,484	206,79
Серія	ВМ(90)+90відн(Е)						
1	0,237	135,1	6,59	3,54	47,6	1,368	194,44
2	0,239	128,26	6,43	3,49	43,09	1,391	182,9
3	0,229	121,4	6,72	3,35	46,26	1,431	179,39
4	0,237	112,51	7,01	3,1	49,87	1,446	174,17
5	0,216	130,48	6,34	3,34	40,01	1,413	181,8
6	0,236	119,42	7,08	3,67	41,78	1,418	173,6
7	0,226	135,42	6,44	3,46	48,21	1,375	195,13
8	0,223	122,78	6,41	3,42	46,42	1,401	180,65
Серія	ВМ+Е(90)+90відн(Е)						
1	0,201	108,53	5,83	3,27	39,59	1,246	158,67
2	0,201	121,91	6,04	2,88	41,41	1,253	173,69
3	0,212	105,07	6,12	3,02	46,26	1,269	161,95
4	0,188	101,26	5,62	2,95	37,68	1,239	148,94
5	0,199	111,65	5,87	2,87	43,14	1,233	164,96
6	0,207	126,97	5,78	3,13	40,23	1,275	177,59
7	0,213	114,21	5,82	3,27	39,48	1,224	164,22
8	0,189	113,06	5,46	2,83	38,95	1,269	161,76