

DOI: 10.26693/jmbs02.05.059

УДК 618.14-006.6:[57.08:599.323.45

Пелин Елина, Глоба Татьяна, Дарий Алексей, Глоба Лилиан

## КЛЕТКИ ДИФFUЗНОЙ ЭНДОКРИННОЙ СИСТЕМЫ (ДЭС) ЭНДОМЕТРИЯ МАТКИ ИНТАКТНЫХ КРЫС В РАЗНЫХ ФАЗАХ ЭСТРАЛЬНОГО ЦИКЛА

Государственный медицинский и фармацевтический университет  
имени Николае Тестемицану, Республика Молдова

elina.pelin@usmf.md

Цель данной работы – изучение топографии, морфологии и гистофизиологии клеток диффузной эндокринной системы эндометрия матки интактных крыс в разных фазах эстрального цикла (эструса и покоя).

Эструс характеризуется уменьшением количества клеток, содержащие серотонин, а также снижением количества серотонин содержащих гранул, и их интенсивности флуоресценции. Снижение содержания серотонина в матке в эструсе обусловлено главным образом за счёт уменьшения синтеза и накопления этого биогенного амина, чем за счёт усиления его секреции.

**Ключевые слова:** диффузная эндокринная система, матка, серотонин, эструс.

**Актуальность.** Одной из главных задач современной онкогинекологии является изучение различных аспектов патогенеза предраковых процессов [12] и рака шейки матки [10]. Клетки диффузной эндокринной системы участвуют в физиологических процессах, которые протекают циклически в матке: овариально-менструальный цикл у женщин и эстральный цикл у животных [2, 7].

Диффузная эндокринная система матки хотя и представляет собой локальную регулирующую систему, она модулируется нервными и эндокринными стимулами.

Из всех биогенных аминов серотонин является самым распространенным в диффузной эндокринной системе, где он действует как тканевой гормон [17].

Введение экзогенного серотонина зрелым крысам приводило к радикальным изменениям в эстральном цикле [4], которые проявлялись в увеличении его продолжительности за счёт периода покоя [20].

Чувствительность изолированной матки крыс к серотонину была увеличена в эструсе [16] и при введении эстрадиола крысам с удаленными яичниками, в то время как уровень серотонина в маточ-

ных трубах и в матке в эструсе было ниже, чем у крыс в фазе покоя эстрального цикла [5].

**Цель данной работы** – изучение топографии, морфологии и гистофизиологии клеток диффузной эндокринной системы (ДЭС) эндометрия матки интактных крыс в разных фазах эстрального цикла (эструса и покоя).

**Объект и методы исследования.** Наши эксперименты были проведены на 26 белых лабораторных крысах с массой тела 160–180 грамм, подерживающихся при стандартных условиях вивария: из них 10 в фазе эструса и соответственно 16 в фазе диэструса (покоя или контроля). Содержание животных и эксперименты проводились согласно правил Европейской Конвенции относительно защиты позвоночных животных, которые используются в экспериментальных исследованиях и с другой научной целью [European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. – Council of Europe, Strasbourg, 1986. – 53 p.].

### **Методы исследования:**

**1. Влагалищный мазок.** Подразделение крыс на группы производилось путём исследования вагинального мазка. В соответствии с этими данными были выбраны животные в фазе эструса и покоя.

**2. Органометрию** проводили путём изучения срезов средней трети матки, полученных в криостате, толщиной в 15 мкм, при малом (x10) увеличении люминесцентного микроскопа с помощью специальной сетки (1см<sup>2</sup> разделённый на мм<sup>2</sup>). Была измерена толщина эндометрия.

**3. Выявление клеток системы ДЭС, содержащие серотонин по гистолюминесцентному методу** (V. Lutan, 1985).

**4. Морфометрия** проводилась с помощью люминесцентного микроскопа при большом увеличении (x90) с помощью специальной сетки (1см<sup>2</sup> разделённый на мм<sup>2</sup>) и были изучены клетки эндометрия. Морфометрия включает несколько параметров:

- определение размера клеток: длины, ширины, количества внутриклеточных гранул, содержащие серотонин и их интенсивность флуоресценции, что указывает на концентрацию серотонина в клетке. Объем клеток рассчитывали по формуле Арнольда [14]:  $V = \pi/6 \times (AB)^2$ , где А и В - являются диаметрами клеток. Количество внутриклеточных гранул серотонина, их размеры и концентрация серотонина характеризуют секреторную фазу цикла этих клеток.
- определение плотности клеток, содержащих серотонин в эндометрии матки, что характеризует интенсивность пролиферации этих клеток.
- определение плотности внеклеточных гранул в  $1 \text{ мм}^2$  и их интенсивности флуоресценции что показывает на интенсивность секреции этих гранул путём дегрануляции клеток и диффузии серотонина в межклеточное пространство.

#### 5. Определение серотонинового индекса диффузной эндокринной системы

Исходя из основной способности клеток ДЭС синтезировать серотонин из предшественников и накапливать его внутриклеточно, одним из их характеристик является серотониновый индекс (Lutan V., Pelin E., 2006b). Его рассчитывали по следующей формуле:

$$I \text{ серотонина} = N \text{ клеток} \times V \times I,$$

где: **I серотонина** – серотониновый индекс; **N клеток** – количество клеток, содержащие серотонин на  $1 \text{ мкм}^2$ ; **V** – средний объем клетки; **I** – средняя интенсивность флуоресценции этих клеток.

Этот индекс отражает общее количество внутриклеточного серотонина, который содержится в единице объема (массы) органа и косвенным образом соотношение между интенсивностью процесса внутриклеточного синтеза и секреции этого биогенного амина.

#### 6. Определение индекса секреции клеток, содержащих серотонин

Секреция этих клеток осуществляется путем экзоцитоза гранул. Этот индекс рассчитывали по следующей формуле [9]:

$$I \text{ секреции} = (N \text{ гранул} \times I): N \text{ клеток},$$

где: **I секреции** – индекс секреции серотонина; **N гранул** – количество межклеточных гранул на  $1 \text{ мм}^2$ ; **I** – интенсивность флуоресценции межклеточных гранул; **N клеток** – количество клеток, содержащих серотонин на  $1 \text{ мм}^2$ .

#### Результаты исследования и их обсуждение.

Толщина эндометрия в эструсе составляла  $0,51 \pm 0,04 \text{ мм}$ , которая практически не отличается от контрольной группы (фаза покоя):  $0,51 \pm 0,04 \text{ мм}$ . Клетки со специфической флуоресценции были

обнаружены больше в эндометрии. Их плотность составляла  $1792,8 \pm 76,11$ , что значительно меньше чем в контрольной группе ( $2964,32 \pm 67,64$ ). Клетки были небольших размеров и неправильной формы (чаще треугольной формы). Их объем составлял  $922,97 \pm 52,93$ , что значительно меньше чем в контрольной группе ( $2964,32 \pm 67,64$ ). Соответственно клетки также содержали меньше гранул, которые были и более мелкими. В среднем одна клетка содержала  $10,82 \pm 0,17$  гранул по сравнению с контрольной группой ( $17,77 \pm 0,14$ ), где они были и более крупных размеров. Их интенсивность флуоресценции составляла  $0,12 \pm 0,002$ , что было меньше чем в периоде покоя ( $0,18 \pm 0,002$ ). Помимо этих клеток, содержащие серотонин, в их непосредственной близости были обнаружены и флуоресцирующие гранулы. Их плотность составляла  $30076,7 \pm 1189,01$  гранул на  $1 \text{ мм}^2$ , которые аналогичны плотности гранул из контрольной группы ( $29491,38 \pm 930,14$ ). Интенсивность флуоресценции этих гранул составляла  $0,04 \pm 0,002$  единиц, что незначительно ниже чем в контрольной группе ( $0,05 \pm 0,002$ ).

В эструсе мы констатировали минимальное значение серотонинового индекса, то есть отмечалось низкое количество внутриклеточного серотонина и самый низкий индекс секреции, что соответствует сниженному количеству и внеклеточного серотонина. Также эти два индекса снижаются и после администрации эстрогенов [9] (рис.).

Мы видим, что женские половые гормоны могут модулировать активность серотонина, что было доказано и Klink R. и соавт. (2002). Введение экзогенного эстрогена вызывают аналогичные изменения в эндометрии как в эструсе, а введение прогестерона изменения характерные для периода покоя [9].

Полученные данные коррелируют с результатами Ichida S. и соавт. (1984) которые утверждают,

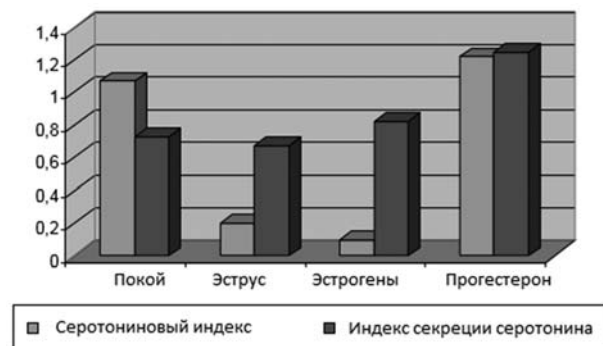


Рис. Серотониновый индекс и индекс секреции серотонина в эндометрии в эструсе, в периоде покоя и для сравнения после введения экзогенного эстрогена и прогестерона

что введение эстрадиола изменяют только количество 5-HT рецепторов, но не участвует в метаболизме серотонина. Точно также активность моноаминоксидазы в эндометрии начинает повышаться сразу после овуляции, достигая максимальной активности в середине секреторной фазы овариально-менструального цикла и держится на высоком уровне в течение всей этой фазы [18]. Анализируя эти данные, можно заключить что количество серотонина в матке варьирует в зависимости от фаз эстрального цикла что было доказано Pelin E., (2006); Schmidt G. И соавт., (1988). В 1974, Курский М. Д., Бакшеев Н. С., которые установили, что существует прямая связь между накоплением серотонина в матке и выработкой эстрогенов в яичниках.

Следует отметить, что содержание серотонина в гипоталамусе и матке находится в обратной зависимости на разных стадиях эстрального цикла. Таким образом, в гипоталамусе был самый высокий уровень серотонина в эструсе, в то время как в матке, по нашим данным, в тот же период отмечался самый низкий уровень серотонина. И наоборот, когда уровень серотонина в гипоталамусе был минимален [1] в наших опытах отмечался самый высокий уровень серотонина в матке.

Роль серотонина в процессах клеточной пролиферации и дифференцировке, как физиологической, так и злокачественной, открывает большие возможности использования этого амина в медицинской практике. Таким образом, серотонин мо-

жет быть использован для повышения устойчивости к химиотерапии, а также потенцирования её терапевтического эффекта [15].

Тем не менее, до настоящего времени не решены основные моменты гистофизиологии и биохимии клеток ДЭС матки: изменения в синтезе и секреции биологически активных веществ в физиологических процессах (эструс, овариально-менструальный цикл, беременность, роды, послеродовая инволюция матки) и патологических состояний (воспаление, рост опухоли), возможность целенаправленных изменений этих функций с целью коррекции отклонений от нормы и терапевтических целей.

**Вывод.** Эструс характеризуется уменьшением количества клеток, содержащие серотонин, а также снижением количества серотонин содержащих гранул и их интенсивности флюоресценции. Эти данные, наряду с постоянным числом внеклеточных гранул указывают на то, что снижение содержания серотонина в матке в эструсе обусловлено главным образом за счёт уменьшения синтеза и накопления этого биогенного амина, чем за счёт усиления его секреции.

**Перспективы дальнейших исследований.** Проведенное исследование не исчерпывает все аспекты физиологических и патологических аспектов активности женской репродуктивной системы. В связи с этим возможно дальнейшее продолжение работы по изучению других клеток диффузной эндокринной системы матки.

## References

1. Benetato G, Uluitu M, Bonciocat C, Suhaciu GH, Neculau V. The effect of reserpine and of sectioning of the medial forebrain bundle on the estral cycle in rats in terms of the serotonin content in the rhinencephalon and hypothalamus. *Roumaine physiol.* 1967; 4: 89-105.
2. Dynarowicz I, Watkowski T, Dziegielewski M. Analysis of the effects of oxytocin, vasopressin, angiotensin, serotonin and histamine on the blood flow in the reproductive organs of swine the during estrous cycle. *Pol Arch Weter.* 1988; 28 (1-2): 99-111. PMID: 3267815.
3. Ichida S, Oda Y, Tokunaga H, Hayashi T, Murakami T, Kita T. Mechanisms of specific change by estradiol in sensitivity of rat uterus to serotonin. *J Pharmacol Exp Ther.* 1984 Apr; 229 (1): 244-9. PMID: 6538599.
4. Johnson JH, Kitts CS. Serotonergic mediation of a negative feedback effect of estrogen on luteinizing hormone release in ovariectomized rats. *Endocrinology.* 1988 Nov; 123 (5): 2270-5. PMID: 3168923. DOI: 10.1210/endo-123-5-2270.
5. Juorio AV, Chedrese PJ, Li XM. The influence of ovarian hormones on the rat oviductal and uterine concentration of noradrenaline and 5-hydroxytryptamine. *Neurochem Res.* 1989 Sep; 14 (9): 821-7. PMID: 2594147.
6. Klink R, Robichaud M, Debonnel G. Gender and gonadal status modulation of dorsal raphe nucleus serotonergic neurons. Part I: effects of gender and pregnancy. *Neuropharmacology.* 2002 Dec; 43 (7): 1119-28. PMID: 2594147.
7. Laudon M, Yaron Z, Zisapel N. N-(2,4-dinitrophenyl)-5-methoxytryptamine, a novel melatonin antagonist: effects on sexual maturation of the male and female rat and on oestrous cycles of the female rat (corrected). *J Endocrinol.* 1988 Jul; 118 (1): 168. PMID: 2828507.
8. *Certificat de inovator № 4426 (Moldova).* Metoda de determinare a indicelui de secreție a serotoninocitelor sistemului endocrin difuz (SED) / Lutan Vasile, Pelin Elina; din 23.02.2006a.
9. *Certificat de inovator № 4427 (Moldova).* Metoda de determinarea indicelui serotoninic al sistemului endocrin difuz / Lutan Vasile, Pelin Elina; din 23.02.2006b.
10. Mencaglia L. Endometrial cytology: six years of experience. *Diagn Cytopathol.* 1987 Sep; 3 (3): 185-90.
11. Pelin E. Acțiunea hormonilor estrogeni și progestinelor asupra sistemului endocrin difuz al uterului șobolanilor. *Analele științifice ale USMF "Nicolae Testemițanu".* 2006; I: 92-96.

12. Polishchuk LZ, Grishchenko AF, Ganina KP. Quantitative changes in the karyotype during hyperplastic processes in cancer of the endometrium. *Vopr Onkol.* 1987; 33 (9): 47-54. [Russian]. PMID: 3660757.
13. Schmidt G, Kannisto P, Owman C, Sjoberg NO. Is serotonin involved in the ovulatory process of the rat ovary perfused in vitro? *Acta Physiol Scand.* 1988 Feb; 132 (2): 251-6. PMID: 3227874. DOI: 10.1111/j.1748-1716.1988.tb08324.x
14. Avtandilov GG. *Meditsinskaya morfometriya.* Moskva, 1990. 384 s.: il. [Russian].
15. Baksheev NS, Milyanovskiy AI, Dudarenko VP, Frolova GD, Kolesnik LN. Serotonin v kompleksnom lechenii raka matki i yaichnikov. *Akusherstvo i ginekologiya,* 1975; 8: 47-51. [Russian].
16. Bordunovskaya VP, Tsirkin VI, Filimonov VG. Vliyanie ryada sokrashchayushchikh matku sredstv na sokratitelnyuyu aktivnost miometriya (v eksperimente). *Akusherstvo i ginekologiya.* 1979; 5: 55-7. [Russian].
17. Kurskiy MD, Baksheev HC. *Biokhimicheskie osnovy mekhanizma deystviya serotoninina.* Kiev, 1974. 294 s. [Russian].
18. Lukin VA. Issledovanie katekholaminov i aktivnosti monoaminooksidazy v endometrii na protyazhenii normalnogo menstrualnogo tsikla. *Akusherstvo i ginekologiya.* 1975; 12: 22-4. [Russian].
19. *Avtorskoe svidetelstvo №1193497. G01N1/30, A61B10/00. Sposoby opredeleniya serotoninina v kletkakh nervnoy tkani na gistologicheskom preparate / Lutan Vasily Stepanovich. 22 iyulya 1985.* [Russian].
20. Plekhova EI. Ob uchastii serotoninina v protsessakh stanovleniya funktsiy zhenskoy polovoy sistemy. *Okhrana zdorovya detey i podrostkov.* 1973; 5: 93-7. [Russian].

УДК 618.14-006.6:[57.08:599.323.45

**КЛІТИНИ ДИФУЗНОЇ ЕНДОКРИННОЇ СИСТЕМИ (ДЕС) ЕНДОМЕТРІЯ МАТКИ ІНТАКТНИХ ЩУРІВ В РІЗНИХ ФАЗАХ ЕСТРАЛЬНОГО ЦИКЛУ**  
**Пелін Еліна, Глоба Тетяна, Дарій Олексій, Глоба Ліліан**

**Резюме.** Мета даної роботи - вивчення топографії, морфології і гістофізіології клітин дифузної ендокринної системи ендометрія матки інтактних щурів в різних фазах естрального циклу (еструса і спокою).

Еструс характеризується зменшенням кількості клітин, що містять серотонін, а також зниженням кількості гранул що містять серотонін, і їх інтенсивності флуоресценції. Зниження вмісту серотоніну в матці в еструс обумовлено головним чином за рахунок зменшення синтезу і накопичення цього біогенного аміну, ніж за рахунок посилення його секреції.

**Ключові слова:** дифузна ендокринна система, матка, серотонін, еструс.

UDC 618.14-006.6:[57.08:599.323.45

**Diffuse Endocrine System (Des) Cells of the Uterus Endometrium of Intact Rats in Different Phases of the Estrous Cycle**  
**Pelin E., Globa T., Darius A., Globa L.**

**Abstract.** One of the important directions of contemporary gynaecological oncology is the study of various aspects of precancerous lesions pathogenesis and uterine cancer. The cells of diffuse endocrine system participate in the physiological and cyclical processes that take place in the genital organs, such as, the menstrual cycle in women and the oestrus in animals. Among all biogenic amines the serotonin is the most common in the diffuse endocrine system, which acts as a tissue hormone.

*The purpose of the study is* examination of topography, morphology, and histophysiology of the uterine endocrine diffuse system cells in different estral cycle phases (estrus and estral rest) of intact rats.

*Materials and methods.* The experiments were performed on laboratory white female rats with a body weight of 160-180 g, maintained into the standard vivarium conditions. The experimental material was divided into 2 groups (estrus and rest). Monitoring of estral cycle in rats was performed by vaginal cytology studying.

*Results and discussion.* Serotonin-secreting cells with specific fluorescence were detected throughout the endometrium. Their density was  $1792,8 \pm 76,11$  much lower than in the control group ( $2010,47 \pm 101,59$ ). The cells were characterized by small sizes and mostly by irregular or triangle shapes. Their volume was  $922,97 \pm 52,93$ , which is much lower than in the control group ( $2964,32 \pm 67,64$ ). In addition, the serotonin-secreting cells were contained fewer and smaller granules. Comparative to control group ( $17,77 \pm 0,14$ ) one cell from this region had  $10,82 \pm 0,17$  granules in average. The fluorescence intensity was  $0,12 \pm 0,002$  units, which was lower than that recorded in the rest period ( $0,18 \pm 0,002$ ). In addition to serotonin cells in the endometrium, fluorescent extracellular granules were also detected. They were in close proximity to the serotonin-secreting cells. Their density was  $30076,7 \pm 1189,01$  granules/ $1\text{mm}^2$ , which is practically similar to that of the control group ( $29491,38 \pm 930,14$ ). The fluorescence intensity of those granules was  $0,04 \pm 0,002$  units, which was only slightly lower than in the control group ( $0,05 \pm 0,002$ ). In estrus was observed the most low serotonin index (especially the intracellular serotonin) and secretory index (extracellular serotonin) comparative with the estral rest phase.

Serotonin involvement in the cell differentiation and proliferation processes, both in physiological and embryonic cleavage conditions, opens the possibility of using this amine in medical practice. Thus, serotonin can be used in onco-gynecology to increase the resistance of the female body to cytostatic agents and to potentiate their therapeutic effect.

However, until now, many important aspects of the histopathology and biochemistry of uterine DES cells remain unclarified, such as: changes in the synthesis and secretion of biologically active substances in physiological (estrus, ovarian-menstrual cycle, gestation, labour, post-partum involution) and pathological conditions (inflammation, tumour growth); the possibility of controlled change of these functions in order to correct deviations from the norm and for therapeutic purposes.

*Conclusion.* Oestrus is characterized by quantitative diminution of DES cells in the endometrium, numeric reduction of serotoninic granules in the cells, decreased fluorescence, but with constant extracellular granules number maintaining. These data shows that the uterine decreasing of serotonin in oestrus is produced predominantly by slowed down synthesis and accumulation processes, but not by cell secretion increasing.

**Keywords:** diffuse endocrine system, uterus, serotonin, oestrus.

Стаття надійшла 13.09.2017 р.

Рекомендована до друку на засіданні редакційної колегії після рецензування